
BACHELORARBEIT

Frau
Jenny Bleeck

**Biologische Interpretation und
Evaluierung von Motiven in
transmembranen Bereichen**

Mittweida, 22.08.2012

BACHELORARBEIT

Biologische Interpretation und Evaluierung von Motiven in transmembranen Bereichen

Autor:
Frau

Jenny Bleeck

Studiengang:
Biotechnologie/Bioinformatik

Seminargruppe:
BI09w1-B

Erstprüfer:
Prof. Dr. rer. nat. Dirk Labudde

Zweitprüfer:
M. Sc. Steffen Grunert

Einreichung:
Mittweida, 22.August.2012

Verteidigung/Bewertung:
Mittweida, 2012

Bibliographische Beschreibung:

Bleeck, Jenny:

Biologische Interpretation und Evaluierung von Motiven in transmembranen Bereichen. - 2012 – Verzeichnis 5 S., Inhalt 50 S., Anhang 11 S., Mittweida, Hochschule Mittweida, Fakultät Mathematik/Naturwissenschaften/Informatik, Bachelorarbeit, 2012

Englischer Titel

interpretation and evaluation of motives, transmembrane areas

Kurzbeschreibung:

Die vorliegende Bachelorarbeit befasst sich mit dem Thema, ein besseres Verständnis über den strukturellen Aufbau von Transmembranproteinen zu erlangen. Durch eine intensive Recherche über den biologischen, chemischen und physikalischen Hintergrund von Aminosäuren ist ein zusammengefasstes Grundwissen entstanden, welches in der Lage ist die Bindungseigenschaften und somit auch die Position dieser Aminosäuren in den Proteinen zu erklären.

Mit Hilfe der CSU-Analysis vom Weizmann Institut of science wurden diese Kenntnisse an bekannten Transmembranproteinen zielbewusst überprüft. Die daraus resultierenden Ergebnisse zeigten, dass die Eigenschaften der Aminosäuren zur Stabilität dieser untersuchten Transmembranproteine beitragen. Eine weitere Bestätigung dieser Resultate lieferte die abschließende Überprüfung des Musters „AA2-AA3“ welches in Transmembranproteinen die häufigsten Interaktionen eingeht.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die mich bei der Erstellung dieser Bachelorarbeit unterstützt haben.

Mein Dank gilt zunächst meinen beiden Betreuern Professor Dr. rer. nat. Dirk Labudde und M. Sc. Steffen Grunert, die durch zahlreiche Diskussionen und kleinen Hilfestellungen zum Gelingen dieser Arbeit erheblich beigetragen haben.

Darüber hinaus geht mein Dank an Steffanie Gühne und Rico Hellwig, für das Korrekturlesen und die eingebrachten praktischen Tipps.

An Sandy Buchtela, die mir ihre Weisheit und ihre Unterstützung an jeden einzelnen Tag schenkt und immer für mich da ist.

Last but not least möchte ich mich bei meiner Familie bedanken, die mich während meiner Studienzeit moralisch und vor allem finanziell sehr unterstützt haben.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis	V
1 Einleitung	1
2 Zielstellung	3
3 Fachliches Umfeld.....	4
3.1 Die biologische Bedeutung von Membranproteinen	4
3.2 Biologie der Proteine.....	5
3.3 Eigenschaften der Aminosäuren.....	6
3.4 Wechselwirkungen zwischen den Aminosäuren	14
3.4.1 Kovalente Bindungen	14
3.4.2 Nicht kovalente Verbindungen	16
4 Verwendete Programme und Algorithmen	20
4.1 PDBTM	20
4.2 CSU-Analysis nach Weizmann.....	21
4.3 Programm	22
4.4 Motivanalyse und Weblogos	23
5 Ergebnisse	25
5.1 Gesamtzahl aller Interaktionen im Überblick	25
5.2 Die Wasserstoffbrückenbindungen	26
5.2.1 Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Aminosäuren innerhalb der Helix	26
5.2.2 Wasserstoffbindungen zwischen Aminosäuren benachbarter Helices	27
5.3 Die aromatischen Wechselwirkungen.....	28
5.3.1 Aromatische Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren innerhalb der Helix.....	28
5.3.2 Aromatische Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren benachbarter Helices	29
5.4 Die Hydrophoben Wechselwirkungen.....	31
5.4.1 Hydrophobe Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren innerhalb der Helix	31
5.4.2 Hydrophobe Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren benachbarter Helices	32
5.5 Die Hydrophob-hydrophile Kontakte	33
5.5.1 Hydrophob-hydrophile Kontakte zwischen Aminosäuren innerhalb der Helix	33
5.5.2 Hydrophob-hydrophile Kontakte zwischen Aminosäuren benachbarter Helices	34
6 Diskussion	35
6.1 Die Wasserstoffbrückenbindungen	35
6.1.1 Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Aminosäuren innerhalb der Helix	35
6.1.2 Wasserstoffbindungen zwischen Aminosäuren benachbarter Helices	37
6.2 Die Aromatischen Wechselwirkungen	38

6.2.1 Aromatische Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren innerhalb der Helix	38
6.2.2 Aromatische Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren benachbarter Helices	39
6.3 Die Hydrophoben Wechselwirkungen.....	41
6.3.1 Hydrophobe Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren innerhalb der Helix	41
6.3.2 Hydrophobe Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren benachbarter Helices	42
6.4 Die Hydrophob-hydrophile Kontakte.....	43
6.4.1 Hydrophob-hydrophile Kontakte zwischen Aminosäuren innerhalb der Helix	43
6.4.2 Hydrophob-hydrophile Kontakte zwischen Aminosäuren benachbarter Helices	44
6.5. Auftretende Bindungskräfte im Transmembranmotiv	45
7 Ausblick	47
8 Zusammenfassung.....	48
Literaturverzeichnis	50
Anhang	53
Selbstständigkeitserklärung	63

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Struktur der Transmembranproteine	5
Abbildung 2: Aminosäurestruktur	6
Abbildung 3: Die 20 kanonischen Aminosäuren	7
Abbildung 4: Einfluss der AS auf Struktur	13
Abbildung 5: Bindungsarten.	14
Abbildung 6: Aromatische Wechselwirkungen	15
Abbildung 7: Wasserstoffbrückenbindungen in α -Helix	18
Abbildung 8: PDBTM-Startseite	21
Abbildung 9: CSU-Analysis Startseite	22
Abbildung 10: Helixlänge in Membran	23
Abbildung 11: Weblogo des Motivs AA3-AA2	24
Abbildung 12: Weblogo des Motivs AA3-AA2Auswertung	46

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Hydrophobizitätsskalen	9
Tabelle 2: Einteilung der AS nach der Größe	12
Tabelle 3: Interaktionen im Überblick:.....	26
Tabelle 4: Interaktionen von Wasserstoffbrücken innerhalb der Helix.....	27
Tabelle 5: Interaktionen von Wasserstoffbrücken zu benachbarten Helices	28
Tabelle 6: Interaktionen von aromatischen WW innerhalb der Helix,	29
Tabelle 7: Interaktionen von aromatischen WW zu benachbarten Helices.	30
Tabelle 8: Interaktionen von hydrophoben WW innerhalb der Helix.....	31
Tabelle 9: Interaktionen von hydrophob WW zu benachbarten Helices	32
Tabelle 10: Interaktionen von hydrophob-hydrophilen Kontakten innerhalb der Helix	33
Tabelle 11: Interaktionen von hydrophobe-hydrophilen Kontakten zu benachbarten Helices....	34
Tabelle 12: Interaktionen von Wasserstoffbrückenbindungen innerhalb der Helix.....	36
Tabelle 13: Interaktionen von Wasserstoffbrückenbindungen zu benachbarten Helices.	38
Tabelle 14: Interaktionen von aromatischen WW innerhalb der Helix	39
Tabelle 15: Interaktionen von aromatische WW zu benachbarten Helices	40
Tabelle 16: Interaktionen von hydrophoben WW innerhalb der Helix.....	42
Tabelle 17: Interaktionen von hydrophoben WW zu benachbarten Helices	43
Tabelle 18: Interaktionen von hydrophob-hydrophilen Kontakten innerhalb der Helix	44
Tabelle 19: Interaktionen von hydrophob-hydrophilen Kontakten zu benachbarten Helices.	45

Abkürzungsverzeichnis

Δ EN	Elektronegativitätsdifferenz
Å	Ångström
A	Alanin
Arom	Aromatische Wechselwirkungen
AS	Aminosäure
C	Cystein
D	Asparaginsäure
DC	Hydrophob-hydrophiler Kontakt
DNA	Desoxyribonukleinsäure
E	Glutaminsäure
F	Phenylalanin
G	Glycin
H	Histidin
HB	Wasserstoffbrückenbindung
I	Isoleucin
K	Lysin
L	Leucin
M	Methionin
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
N	Asparagin
nTM	Nicht transmembraner Bereich
P	Prolin
Phob	Hydrophobe Wechselwirkung
Q	Glutamin
R	Arginin
S	Serin
T	Threonin
TM	Transmembraner Bereich
TMHMM	Transmembrane Hidden Markov Model
tRNA	transfer Ribonukleinsäure
V	Valin
W	Tryptophan
WW	Wechselwirkung
Y	Tyrosin

1 Einleitung

„Wenn die Natur nicht zwischen Physik, Chemie und Biologie unterscheidet, warum sollten dies [...] diejenigen Wissenschaftler tun, die sie erforschen?“

Jürgen Mittelstraß, 1999

Im Zeitalter der modernen Molekularbiologie und Genetik, wird die Informatik zum wesentlichen Bestandteil sämtlicher Forschungsbereiche, und bildet durch einen Zusammenschluss dieser Fachgebiete eine völlig neue, und revolutionäre Disziplin der gegenwärtigen und zukünftigen Forschung. Die daraus resultierende Bioinformatik, unterliegt dem grundlegenden Prinzip, die immer größer werdenden Herausforderungen der Biologie mit Hilfe informatischer Algorithmen zu lösen. Eine wichtige Rolle nimmt die Bioinformatik bei der Verwaltung der exponentiell ansteigenden Menge von biologischen Daten ein, um diese zu analysieren, einzuteilen und zu verwalten. Des Weiteren beschäftigt sich dieses Forschungsgebiet mit der Sequenzanalyse von DNA- und Aminosäuresequenzen um Rückschlüsse auf die evolutionäre Entwicklung zu schließen, sowie mit der Strukturanalyse auf Basis der Proteomik, womit sich diese Arbeit beschäftigen wird. In der Strukturanalyse wird die Analyse der Proteinfaltung thematisiert, um zukunftsorientiert, detailliertere Strukturvorhersagen treffen zu können [Hütt & Dehnert, 2006]. Proteine sind der Grundbaustein allen Lebens. Nahezu alle biologischen Strukturen und metabolistische Systeme lassen sich auf diese Substanzen zurückführen. Dabei erfüllen sie unzählige Aufgaben in allen bedeutenden Prozessen der Biologie. Ihre Vielfalt reicht von Strukturproteinen über leistungsfähige Biokatalysatoren, die als Enzyme bekannt sind, bis hin zur Regulation des Stoffaustauschs zwischen Zelle und Umgebung. Für Letzteres sind spezielle Proteinklassen zuständig, die als Transmembranproteine bezeichnet werden und die Aufgabe besitzen, fortlaufende Interaktionen einer Zelle mit seiner Umgebung zu ermöglichen. Durch ihre Mannigfaltigkeit sind Proteine in der Lage, unzählbar viele Strukturen auszubilden, denen aufgrund ihrer Individualität unterschiedliche Aufgaben zu Teil werden. Diese Vielfältigkeit lässt sich auf die

20 kanonischen Aminosäuren zurückführen, die mithilfe ihrer physischen und chemischen Eigenschaften unterschiedliche Bindungen eingehen können und so für die vielgestaltigen Strukturen der Proteine verantwortlich sind [Schwenzer, 2011]. Nun gilt es, dieses Wissen hierüber mittels eingehender Literaturrecherche zu ergründen, um die genauen Positionen von Aminosäuren zu rechtfertigen und Rückschlüsse auf die gesamte Proteinfaltung von Transmembranproteinen zu erhalten.

2 Zielstellung

Ziel dieser Arbeit ist es ein besseres Verständnis über den Aufbau von Transmembranproteinen mittels biochemischer Grundlagen zu schaffen. Durch eine intensive Recherche über den biologischen, chemischen und physikalischen Hintergrund von Aminosäuren soll ein zusammengefasstes Grundwissen entstehen, welches es ermöglichen soll, den Sequenzaufbau von Proteinen besser nachzuvollziehen. Hierfür werden die erlangten Erkenntnisse an die bereits bekannten Transmembranproteine angelegt, um den Wahrheitswert zu überprüfen. Diese Information soll zu einem späteren Zeitpunkt genutzt werden, um häufig auftretende Muster in den Transmembranbereichen zu rechtfertigen, um somit ihre Funktion im Aufbau zu erklären.

Zum besseren Verständnis erfolgt zu Beginn der Arbeit, im anschließenden Kapitel, eine Erklärung einiger elementarer Grundlagen, die gleichzeitig die umfangreiche Literaturrecherche der erwähnten Aminosäuren, über ihre Eigenschaften und mögliche Bindungsarten enthält. Im Anschluss daran werden die verwendeten Programme und Methoden erklärt, die zur Überprüfung der aus Abschnitt 3 ermittelten Kenntnisse, benötigt wurden. Die Ergebnisse und anschließende Auswertung darüber sind im stetigen Fortgang der Arbeit erfasst. In Kapitel 7 wird ein Ausblick gewährt, was basierend auf dieser Arbeit verfolgt werden sollte und wofür diese Erkenntnisse zukünftig genutzt werden könnten. Abschließend folgt eine komprimierte Zusammenfassung der Arbeit.

3 Fachliches Umfeld

3.1 Die biologische Bedeutung von Membranproteinen

Die Biomembran in einer Zelle besitzt die Aufgabe, das Zellinnere von der äußeren Umgebung zu trennen, um so ein konstantes inneres Milieu für die Zelle zu schaffen. Diese Membran besteht aus einer Phospholipiddoppelschicht, bei der sich immer zwei Lipide gegenüber liegen mit dem polarem Kopf nach außen und dem unpolaren Schwanz nach innen gerichtet. Aufgrund der Permeabilität der Biomembran können lediglich kleinere Moleküle wie H_2O , O_2 , CO_2 oder Harnstoff die Membran passieren. Integrale Membranproteine, oder auch Transmembranproteine genannt, durchziehen die Zellmembran vollständig und ermöglichen so den Austausch von größeren polaren oder geladenen Teilchen [Rehm & Hammer, 2005]. Diese Proteine bestehen aus Aminosäureketten, welche die Membran als rechtsgängige α -Helix mit einer Durchschnittslänge von 27,5 Å, einmal oder mehrmals durchziehen können [Hildebrand, 2003]. Dabei wird der helicale Bereich als Transmembran-Domäne bezeichnet, die über sogenannte Zwischenbereiche auch transition-Regionen genannt, mit dem extrazellulären und intrazellulären Bereichen verbunden ist. (wie in Abbildung 1 zu erkennen) In diesen extrazellulären und intrazellulären Bereichen befinden sich die Proteinabschnitte, die die Helices voneinander abgrenzen. Indessen erzeugen Wechselwirkungen zwischen den Aminosäuren Stabilität innerhalb der Helix und zu umliegenden Transmembran-Domänen. Desweiteren ist es möglich, dass sich durch eine Zusammenlagerung mehrerer Proteinabschnitte sogenannte Proteinkomplexe bilden, die sich durch die Phospholipiddoppelschicht ziehen. Hierbei werden die einzelnen Proteinabschnitte auch Untereinheiten oder Polypeptidketten genannt, die in der Lage sind untereinander Interaktionen auszubilden, um für mehr Stabilität zu sorgen. Bevor die Interaktionen beschrieben werden, soll zunächst die Entstehung der Proteine aus Aminosäuren erläutert werden [Rehm & Hammer, 2005].

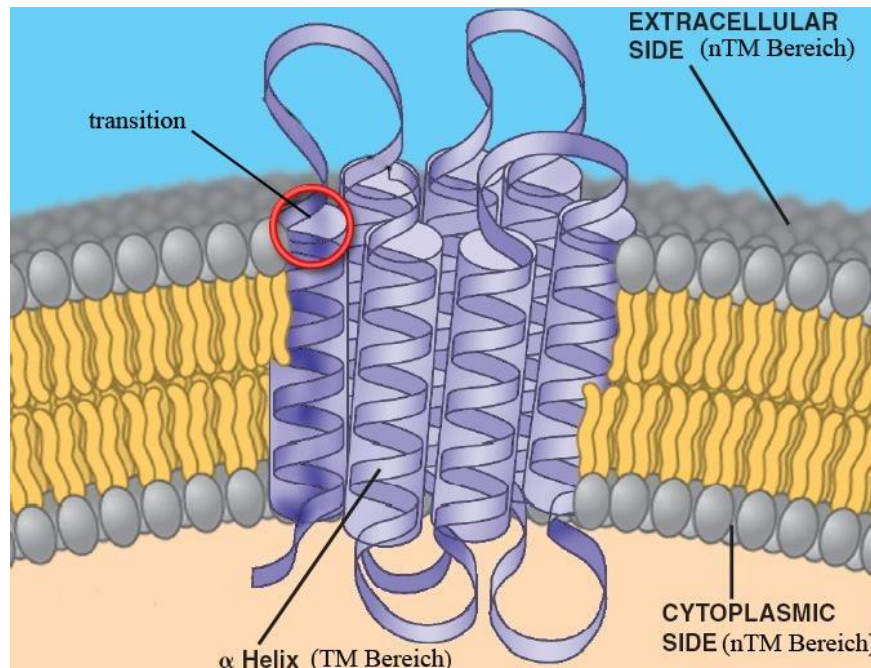


Abbildung 1: Die Transmembranproteine, die aus α -helicalen Abschnitten bestehen, durchspannen die Membran vollständig und werden durch sogenannte transition-Bereiche, die hier farbig eingezeichnet wurden, von den extrazellulären und intrazellulären Bereichen der Zelle getrennt. (Papageorgiou, 2012).

3.2 Biologie der Proteine

Die Herstellung von Proteinen, die auch als Proteinbiosynthese bezeichnet wird, ist ein biochemischer Prozess, bei welchem in mehreren Teilschritten die Information aus der Desoxyribonukleinsäure (DNA) gewonnen wird, um so Proteine zu synthetisieren.

Auf der DNA ist die Aminosäuresequenz eines jeden Proteins codiert. Dieser Abschnitt wird demzufolge zunächst abgelesen und anschließend in die messenger-RNA umgewandelt. Hierbei werden die Nukleinbasen (Adenin, Thymin, Guanin und Cytosin) der DNA in die Nukleinbasen Adenin, Uracil, Guanin und Cytosin der RNA umgeschrieben. Bei der anschließenden Translation, die im Ribosom stattfindet, wird die Basensequenz der mRNA in die Aminosäuresequenz des Proteins übersetzt. Hierbei lagert sich eine transfer-RNA, die mit jeweils drei aufeinander folgenden Basen versehen sind und eine Aminosäure codieren, an das entsprechende Codon auf der mRNA an. Durch dieses Verfahren entstehen Aminosäureketten die aus den 20 proteinogenen Aminosäuren aufgebaut sind und sich im weiteren Verlauf zum fertigen Protein falten. Wie aus Abbildung 2 hervorgeht, besitzen alle in

Proteinen eingebauten Aminosäuren die gleiche Grundstruktur und werden auch als α -Aminocarbonsäure bezeichnet. Diese Aminosäuren bestehen aus mindestens einer Carboxyl- ($-\text{COOH}$) und einer Aminogruppe ($-\text{NH}_2$) die an das α -Kohlenstoffatom gebunden sind. Unter Wasserabspaltung kann die COOH -Gruppe einer Aminosäure mit der NH_2 -Gruppe einer anderen Aminosäure miteinander verbunden werden, was als Peptidbindung bezeichnet wird [Lange, 2010]. Bei einer Verbindung von zwei Aminosäuren spricht man von einem Dipeptid, bei einer Anzahl von mehr als 50 Aminosäuren handelt es sich schon um ein Protein. Des Weiteren befindet sich an diesem α -C-Atom ein Wasserstoffatom sowie eine Seitenkette die auch als Restgruppe (R) bezeichnet wird. Diese Gruppe ist verantwortlich für die unterschiedlichen physischen und chemischen Eigenschaften der Aminosäuren, und ist somit auch für die Individualität eines Proteins verantwortlich. Bei diesen Eigenschaften handelt es sich um unterschiedliche Größe, Ladung, Molekülmasse und unterschiedliche chemische Reaktionen. [Löffler & Petrides, 1998]

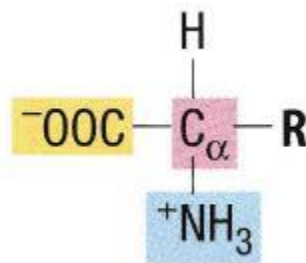


Abbildung 2: Ausführliche Aminosäurestruktur, die die Carboxylgruppe (gelb), Aminogruppe (blau) und das Wasserstoffatom (H) einer jeden α -Aminocarbonsäure zeigt, sowie die Restgruppe (R) die in jeder Aminosäure variiert. [Löffler & Petrides, 1998]

3.3 Eigenschaften der Aminosäuren

Die 20 kanonischen Aminosäuren, die in der DNA codiert sind und somit in allen natürlichen Proteinen vorkommen, können aufgrund ihrer chemischen und physikalischen Eigenschaften gruppiert werden. Dabei sind allerdings nur die Eigenschaften der Seitenketten von Interesse, da die Carboxyl-Gruppe, die Amino-Gruppe und das α -Kohlenstoffatom in der Peptidbindung eingebunden sind. Währenddessen sind die Seitenketten wichtig für die individuelle Raumstruktur des Proteins und sorgen so gleichfalls für Stabilität.



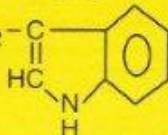
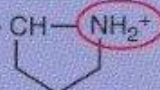
Aminosäure	Abkzgn	Rest	Bemerkungen	
Glycin	Gly, G	- H	Val, Leu und Ile besitzen hydrophobe Reste	unpolar aliphatisch
Alanin	Ala, A	- CH ₃		
Valin	Val, V	- CH (CH ₃) ₂		
Leucin	Leu, L	- CH ₂ - CH(CH ₃) ₂		
Isoleucin	Ile, I	- $\begin{array}{c} \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$		
Cystein	Cys, C	- CH ₂ - SH	schwefelhaltig	
Methionin	Met, M	- CH ₂ - CH ₂ - S - CH ₃		
Phenylalanin	Phe, F	- CH ₂ - 	Die Reste aromatischer Aminosäuren sind hydrophob.	aromatisch
Tyrosin	Tyr, Y	- CH ₂ - 		
Tryptophan	Trp, W	- CH ₂ - 		
Serin	Ser, S	- CH ₂ OH	Hydroxylgruppen können Wasserstoffbrücken bilden.	polar ungeladen
Threonin	Thr, T	- $\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{CH} - \text{CH}_3 \end{array}$		
Asparagin	Asn, N	- CH ₂ - $\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{C} - \text{NH}_2 \end{array}$		
Glutamin	Gln, Q	- (CH ₂) ₂ - $\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{C} - \text{NH}_2 \end{array}$		
Lysin	Lys, K	- (CH ₂) ₄ - NH ₃ ⁺		basisch
Arginin	Arg, R	- (CH ₂) ₃ - NH - $\begin{array}{c} \text{C} = \text{NH}_2^+ \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$		
Histidin	His, H	- CH ₂ - $\begin{array}{c} \text{C} = \text{CH} \\ \quad \\ \text{+HN} \quad \text{NH} \\ \quad \\ \text{C} \quad \text{H} \end{array}$		
Asparaginsäure	Asp, D	- CH ₂ - COOH		sauer
Glutaminsäure	Glu, E	- (CH ₂) ₂ - COOH		
Prolin	Pro, P	-OOC- 		

Abbildung 3: Die 20 kanonischen Aminosäuren. Angegeben sind der Ein-Lettercode/ Drei-Lettercode und ihre Restgruppen, die in einer kleinen Auswahl ihrer unterschiedlichen Eigenschaften gruppiert sind. [Rehm & Hammer, 2005]

Hierbei lassen sich diese 20 Aminosäuren in folgende Gruppen einteilen:

Hydrophobizität

Mit Hilfe der Hydrophobizität kann das Maß der Wasserunlöslichkeit eines Stoffes mathematisch durch den Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten ermittelt und festgehalten werden. Hierbei wird das Verhältnis von der Konzentration eines Stoffes, bezogen auf die zwei unterschiedlichen Phasen, Oktanol und Wasser ermittelt. Bei einem positiven Ergebnis wird der Stoff als hydrophob bzw. wasserunlöslich eingestuft und bei einem negativen Wert als hydrophil (wasserlöslich). Mit diesem Wissen werden Hydrophobizitätsplots erstellt, die es ermöglichen, Aminosäuren mit Hilfe ihrer Wasserlöslichkeitswerte in bestimmte Proteinabschnitte zu unterteilen. In Tabelle 1 sind die sechs bekanntesten Hydrophobizitätsskalen dargestellt, die die Aminosäuren aufgrund ihrer Wasserlöslichkeit einteilen. Die am gängigsten verwendete Methode ist die von Kyte-Doolittle, auf dessen Hydrophobizitätsskala sich diese Arbeit bezieht. Membranproteine sind im hydrophoben Milieu der Membran eingelagert, weshalb Aminosäuren mit hydrophoben Resten eine deutliche Präferenz für die Position innerhalb der Helix aufweisen. Aminosäuren, deren Seitenketten aus unsubstituierten Kohlenwasserstoff-Ketten bestehen, die nur an Wasserstoffatome gebunden sind, werden zu der wasserunlöslichen Gruppe gezählt. Mit diesem Wissen können TM-helicale Bereiche, basierend auf ihrer Hydrophobizität vorhergesagt werden. Zur Bestimmung von transmembranen Bereichen darf eine obere Schranke einer vorgegebenen Sequenzlänge, die die Durchschnittslänge einer Helixsequenz im transmembranen Bereich besitzt, nicht unterschritten werden. Wenn die Summe der Hydrophobizitätswerte die obere Schranke überschreitet, und sich ebenfalls in dem vorgegebenen Sequenzfenster befindet, wird dieser Bereich als TM-Helix vorhergesagt. Andernfalls wird dieser Bereich als nicht transmembraner Bereich eingestuft, der sich sowohl intern als auch extern befinden kann. Sekundärstruktur Vorhersageprogramme wie beispielsweise das *Transmembrane Hidden Markov Model* (TMHMM) bauen auf diese

Methode auf, um so die helikalen Grenzen innerhalb eines Proteins zu erkennen und bestimmte Proteinabschnitte entsprechend einzuteilen [Hildebrand, 2003]. Desweiteren ist es möglich, bestimmte Aminosäuren als amphiphil zu bezeichnen, wenn diese sowohl hydrophile als auch hydrophobe Bereiche aufweisen können. Zur Bestimmung der Amphiphilizität wurde der *amphiphlicity index* eingeführt. Dieser Index besagt, dass alle Aminosäuren mit einer hydrophilen Seitenkette aus mindestens zwei unsubstituierten Kohlenwasserstoff-Molekülen im Übergangsbereich, als amphiphil bezeichnet werden können. Diese Regel trifft auf die Aminosäuren Lysin, Arginin, Histidin, Glutamat, Glutamin, Tryptophan und Tyrosin zu [Mitaku et al. 2001]. Dieser Index wird vorwiegend für das *SOSUI*-Programm verwendet. Dieses Programm wurde für den Zweck entwickelt, eine auf Hydrophobizität basierende Transmembran-Vorhersage zu ermöglichen, die Transmembranproteine von globulären Proteinen unterscheidet [Hirokawa et al. 1998].

Tabelle 1: Hydrophobizitätsskalen. Dargestellt sind die 6 bekanntesten Hydrophobizitätsskalen. Für diese Arbeit wurde die Information der „Kyte-Doolittle-Skala“ verwendet, um die Aminosäuren einzuteilen. [Hildebrand, 2003]

Aminosäure	Engelman-Steitz	Hopp-Woods	Kyte-Doolittle	Janin	Chothia	Eisenberg-Weiss
PHE	-3.7	-2.5	2.8	0.5	0.0	0.61
MET	-3.4	-1.3	1.9	0.4	-0.24	0.26
ILE	-3.1	-1.8	4.5	0.7	0.24	0.73
LEU	-2.8	-1.8	3.8	0.5	-0.12	0.53
VAL	-2.6	-1.5	4.2	0.6	0.09	0.54
CYS	-2.0	-1.0	2.5	0.9	0.0	0.04
TRP	-1.9	-3.4	-0.9	0.3	-0.59	0.37
ALA	-1.6	-0.5	1.8	0.3	-0.29	0.25
THR	-1.2	-0.4	-0.7	-0.2	-0.71	-0.18
GLY	-1.0	0.0	-0.4	0.3	-0.34	0.16
SER	-0.6	0.3	-0.8	-0.1	-0.75	-0.26
PRO	0.2	0.0	-1.6	-0.3	-0.9	-0.07
TYR	0.7	-2.3	-1.3	-0.4	-1.02	0.02
HIS	3.0	-0.5	-3.2	-0.1	-9.94	-0.40
GLN	4.1	0.2	-3.5	-0.7	-1.53	-0.69
ASN	4.8	0.2	-3.5	-0.5	-1.18	-0.64
GLU	8.2	3.0	-3.5	-0.7	-0.90	-0.62
LYS	8.8	3.0	-3.9	-1.8	-2.05	-1.1
ASP	9.2	3.0	-3.5	-0.6	-1.02	-0.72
ARG	12.3	3.0	-4.5	-1.4	-2.71	-1.8

Polarität

Durch die Polarität wird die Ladungsverschiebung innerhalb eines Moleküls angegeben. Diese Polarität wird mit Hilfe der Elektronegativitätsdifferenz (ΔEN) der im Molekül enthaltenen Atome berechnet. Aminosäuren deren Seitenketten nur aus Kohlenstoff- und Wasserstoff-Atomen bestehen, besitzen eine relativ niedrige Elektronegativitätsdifferenz, da zwischen gleichen oder ähnlichen Atomen keine großen Ladungsverschiebungen stattfinden. Diese Aminosäuren werden auch als unpolar bezeichnet. Serin oder Cystein sind Aminosäuren die in ihrem Aufbau aus Sauerstoff- oder Schwefel-Atomen bestehen. Aufgrund der höheren Elektronegativität dieser Atome kommt es zur Ladungsverschiebung innerhalb des Moleküls, weshalb diese Stoffe als polar bezeichnet werden. Mittels dieses Wissens werden die Aminosäuren, wie im Anhang unter [1] zu erkennen ist, wie folgt eingeteilt. Alanin, Glycin, Isoleucin, Leucin, Methionin, Phenylalanin, Prolin, Tryptophan und Valin werden als unpolar eingestuft und die Aminosäuren Arginin, Asparaginsäure, Asparagin, Cystein, Glutaminsäure, Glutamat, Histidin, Lysin, Serin, Threonin und Tyrosin werden als polar bezeichnet [Taylor, 1986].

Die Elektronegativitätsdifferenz ist weiterhin für die Bestimmung der Bindungsart relevant. Bei einem ΔEN von null handelt es sich um eine unpolare Verbindung, bei ansteigendem ΔEN Wert, wird die Verbindung als polar bezeichnet bis hin zur Ionenbindung die sich bei einem Elektronegativitätswert von 1,7 ausbildet [Richter, 2010].

Ladung

Das Dissoziationsverhalten von Aminosäuren gibt Auskunft darüber, ob es sich hierbei um saure, basische oder neutrale Aminosäuren handelt. Dies resultiert auf der Ladung der Seitenkette. Aminosäuren, deren Restgruppen Carboxylgruppen enthalten, werden als saure Aminosäuren eingeteilt und sind negativ geladen, während Aminosäuren mit basischen Seitenketten als positiv geladene Aminosäuren eingeteilt werden. Die Einteilung dieser beiden Kategorien liegt in der Tatsache, dass sie bei einem bestimmten pH-Wert

vollständig dissoziieren können. Lysin, Arginin und Histidin werden demnach zu den positiv geladenen Aminosäuren gezählt, während Glutaminsäure und Asparaginsäure zu den negativ geladenen Aminosäure gezählt werden, da diese eine weitere Carboxylgruppe in ihrer Seitenkette enthalten. Aminosäuren werden häufig auch als Zwitterionen oder als Ampholyte bezeichnet, da sie in der Lage sind sowohl als Säure als auch als Base reagieren zu können. Die meiste Zeit liegen die Aminosäuren im neutralen Zustand vor, bei dem das Verhältnis zwischen den negativen Carboxylgruppen und den positiven Aminogruppen ausgeglichen ist. Dieser Zustand existiert bei einem bestimmtem pH-Wert, welcher auch als isoelektrischer Punkt bezeichnet wird. Bei einer Änderung des pH-Wertes nach oben oder unten, ändert sich auch das Gleichgewicht und die Aminosäure ist nicht länger neutral [Dose, 1996].

Größe

Die Größe der einzelnen Aminosäuren ist ein wesentlicher Bestandteil, bei der Ausbildung der Helix-Struktur. Kleinere Aminosäuren können dichter aneinander liegen und sorgen für eine bessere Umwindung der Helix, was zur Stabilität dieser beiträgt. Größere Moleküle hingegen benötigen mehr Raum und bringen die gleichmäßige Struktur aus der Form, was zu individuellen Knicken in der Helix-Struktur führt, wie es beispielsweise bei Prolin der Fall ist. Da Prolin aufgrund seiner starren Ringstruktur die Helixstruktur wesentlich beeinflusst wird er auch als Helixbrecher bezeichnet. Glycin hingegen ist sehr klein und beweglich, und daher für die Ausbildung von Helixstrukturen geeignet [Nelson & Cox, 2008]. Diese unterschiedlichen Größen der Aminosäuren können durch die Länge ihrer Seitenketten und ihrer Molekülgröße bestimmt werden, wie in Tabelle 2 zu sehen ist. Die Aminosäuren Glycin, Alanin und Serin bestehen aus relativ kleinen Seitenketten und geringer Masse im Vergleich zu längeren Aminosäuren wie Arginin und Tyrosin, die auf eine Masse von 147,1 und 157,2 Dalton kommen. Aus diesem Grund kommt es zu der Annahme, dass Glycin in der helicalen Struktur gehäuft auftreten wird, da

es aufgrund seiner Größe und der hohen Konformationsflexibilität für die Helixstruktur geeignet ist [Braun, 2011].

Tabelle 2: Einteilung der AS nach der Größe ihrer Seitenketten, angegeben in Dalton und ihrer daraus resultierenden durchschnittlichen Verteilung in Proteinen prozentual angegeben [Braun, 2011].

Aminosäure	Masse der Seitenketten in Da	Häufigkeit in Proteinen in %
Glycin	57,0	7,5
Alanin	71,0	9,0
Serin	87,0	7,1
Prolin	97,1	4,6
Valin	99,1	6,9
Threonin	101,1	6,0
Cystein	103,1	2,8
Isoleucin	113,1	4,6
Leucin	113,1	7,5
Asparaginsäure	114,0	5,5
Asparagin	114,1	4,4
Glutamin	128,1	3,9
Glutaminsäure	128,1	6,2
Lysin	129,1	7,0
Methionin	131,1	1,7
Histidin	137,1	2,1
Phenylalanin	147,1	3,5
Arginin	157,2	4,7
Tyrosin	163,1	3,5
Tryptophan	186,2	1,1

Aromaten

Aromatische Verbindungen bestehen aus Ringsystemen die aus konjugierten Doppelbindungen bestehen und sp²-hybridisiert sind. Dabei ist die Anzahl der Kohlenstoffatome im Ring nebensächlich. Das Wesentliche hierbei ist, dass dieses cyclische Molekül vollständig konjugiert ist, das heißt, es muss aus Doppelbindungen bestehen, die durch Einfachbindungen oder geladene Kohlenstoffatome getrennt sind. Diese Doppelbindungen führen zu einer stabilen Form und zu einem genau definierten Winkel von 102° zwischen den

Kohlenstoffatomen. Aufgrund der sp^2 -Hybridisierung, können die freien Elektronenpaare auf einer höheren Ebene π -Bindung ausbilden, und sich hierbei frei bewegen. Aromaten sind in der Lage durch nucleophile Substitution Liganden zu binden. Zu den aromatischen Molekülen werden die Aminosäuren Phenylalanin, Tyrosin und Tryptophan gezählt, da ihre Seitenketten aus Benzolringen bestehen. Auch die Aminosäure Histidin wird zu den Aromaten gezählt, da das Ringsystem ihrer Seitenkette aufgrund von Stickstoff sp^2 hybridisiert ist [Richter 2010].

Einfluss der Aminosäuren auf die α -Helix Struktur

Bei der Bildung von Sekundärstrukturen spielen die Aminosäuren eine entscheidende Rolle. Einige Aminosäuren besitzen die Fähigkeit, aufgrund ihrer Form, ihrer Struktur oder ihrer Größe, die Sekundärstruktur von Proteinen wie α -Helix oder β -Faltblatt, positiv oder negativ zu beeinflussen (Abbildung 4). So eignen sich die Aminosäuren Glutamin (Glu), Alanin (Ala), Leucin (Leu) und Methionin (Met) besonders gut beim Aufbau von Helix-Strukturen, während die Aminosäure Prolin (Pro) als starker Helix- Brecher fungieren, die in einer Helix Struktur an diesen Positionen für strukturelle Knicke in der Kette sorgt. Ein kontinuierliches Auftreten solcher Helix-bildenden Aminosäuren in der Primärstruktur, führt zur Ausbildung von Helix -Strukturen und wird daher auch in solcher gehäuft erwartet [Karlson et al. 1994].

- Starke Helix Bildner: Glu, Ala, Leu, Met
- Schwache Helix-Bildner: Ile, Lys, Gln, Trp, Val, Phe
- Schwache Helix-Brecher: Asn, Tyr
- Starke Helix-Brecher: Pro

Abbildung 4: Aminosäuren, die einen positiven bis hin zum negativen Einfluss auf die α Helixstruktur haben [Karlson et al. 1994].

3.4 Wechselwirkungen zwischen den Aminosäuren

Die Wechselwirkungen zwischen den Molekülen sind sehr entscheidend für ihre Form und Stabilität, was auch ihre Funktion bestimmt. Da jede Bindungsart in ihrer Art, ihrem Radius und ihrer Stärke anders gewichtet wird, werden diese differenziert voneinander betrachtet, was die Abbildung 5 zeigt. Diese Wechselwirkungen besitzen umfangreiche Einflüsse, da sie innerhalb einer Helix für die entsprechende Stabilität sorgen, aber auch übergreifend auf andere Untereinheiten im Protein, die aufgrund ihrer unterschiedlichen Bindungsradien für die entsprechende Struktur und die Individuelle Form der Tertiärstruktur sorgen [Bayrhuber & Kull, 1989].

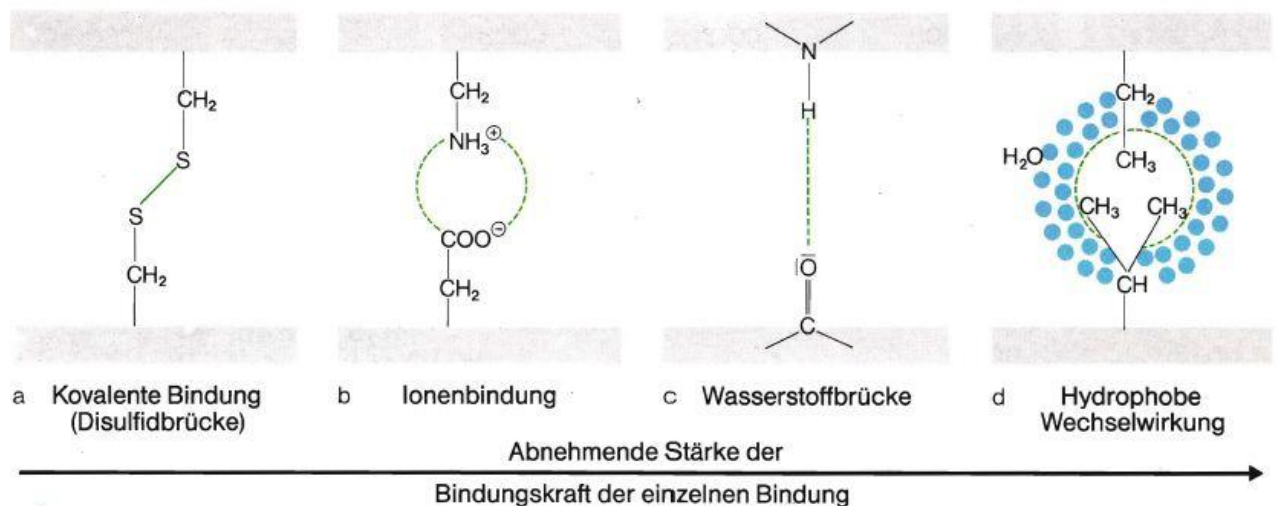


Abbildung 5: Vier Bindungsarten, die zwischen den Aminosäuren auftreten können, und nach steigender Bindungskraft von rechts nach links sortiert sind [Bayrhuber & Kull, 1989].

3.4.1 Kovalente Bindungen

Disulfidbrückenbindung

Die kovalente Bindung zwischen zwei Cystein Aminosäuren wird als Disulfidbrückenbindung bezeichnet und besitzt die stärkste Bindungskraft die unter den Verbindungen untereinander möglich ist, wie in Abbildung 5 zu sehen ist. Diese Verbindung entsteht durch die Oxidation zweier Sulfhydrylgruppen aus den Cystein-Resten bei der das entstehende Produkt Cystin genannt wird.

Eine solche Verbindung kann innerhalb einer Peptidkette stattfinden aber auch übergreifend auf andere Untereinheiten im Protein, um bestimmte Bereiche punktuell zu stabilisieren. Durch diese gerichtete Verbindung wird eine außergewöhnliche Stabilität erzeugt und gleichzeitig eine individuelle geometrische Form der Proteinstruktur erzeugt [Dose, 1996].

π - π Wechselwirkung

Eine aromatische Verbindung entsteht, wenn zwei Benzolringe der Aminosäuren Phenylalanin, Histidin, Tryptophan oder Tyrosin miteinander agieren. Aufgrund der π -Bindungen, die durch die sp^2 -Hybridisierung in Benzolringen entsteht, wird eine Verbindung zwischen zwei Aromaten auch als π - π Wechselwirkung bezeichnet. Angesichts dieser π -Bindungen und der daraus resultierenden frei beweglichen Elektronen, besitzen die sich ergebenden aromatischen Verbindungen stärkere Bindungskräfte, als vergleichsweise Van-der-Waals-Kräfte [Köhler-Ma]. Bei der Bindung zweier π -Systeme, kommt es häufig zur Bildung von T-förmigen Anordnungen oder zu einer leicht versetzten Form der beiden Aromaten wie in Abbildung 6 dargestellt ist [Kubik, 2012]. Desweiteren ist es möglich, dass aromatische Aminosäuren mit positiv oder negativ geladenen Stoffen in Wechselwirkung treten können. Diese Verbindungen werden als Kation- π Wechselwirkung und als Anion- π Wechselwirkung bezeichnet. Demnach ist es möglich, dass die 4 aromatischen Aminosäuren in der Lage sind, mit den positiv geladenen Aminosäuren Arginin und Lysin zu agieren sowie mit den negativ geladenen AS Asparaginsäure und Glutaminsäure [Köhler-Ma].

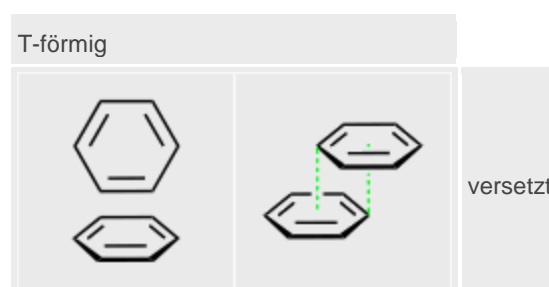


Abbildung 6 Anordnung von möglichen aromatischen Wechselwirkungen zwischen zwei pi-Systemen [Kubik, 2012].

3.4.2 Nicht kovalente Verbindungen

Nicht kovalente Verbindungen spielen bei der Proteinfaltung eine entscheidende Rolle, da sie zahlreich auftreten können und zusammen als Summe eine größere Wirkung erzielen als kovalente Bindungen. Diese Verbindungen zeichnen sich meist durch unterschiedliche Ladungsschwerpunkte aus, sind reversibel und sind dazu noch abhängig von pH-Wert, Salzkonzentration und Hydrophobizität bzw. Polarität [Köhler-Ma]. Diese Verbindungen werden unterteilt in: Ionenbindung, Wasserstoffbrückenbindungen, hydrophobe-Wechselwirkung und Van der Waals- Kräfte.

Ionenbindung

Die Ionen-Ionen Bindung ist, nach der Disulfidbrücke, mit die stärkste Bindung die zwischen den Molekülen entstehen kann (Abbildung 5), und ist aus diesem Grund sehr wichtig für die Raumstruktur von Proteinen. Diese Bindung, auch als Salzbrücke bekannt, bildet sich immer zwischen positiv und negativ geladenen Seitenketten aus. Hierbei entsteht eine Verbindung zwischen den negativ geladenen AS Asparaginsäure und Glutaminsäure oder den Carboxyl-Gruppen, und den positiv geladenen AS Arginin, Lysin und Histidin oder der terminalen Amino-Gruppe wie in Abbildung 3 zu sehen ist. Diese Wechselwirkung ist aber sehr stark vom pH-Wert der Umgebung abhängig, sowie der Salzkonzentration des Mediums, was die Ausbildung beeinträchtigen kann [Dose, 1996].

Wasserstoffbrückenbindung

In der Sekundärstruktur des Proteins sorgen die Wasserstoffbrückenbindungen für besondere Stabilität und Festigkeit. Diese Verbindung kommt zustande, wenn sich das Carbonyl-Sauerstoff, auch Akzeptor genannt, der einen Aminosäure mit dem Amino-Stickstoff (Donor) der anderen Aminosäure ein H-Atom teilen. In der α -Helix bilden sich diese Bindungen zwischen den Windungen in Richtung der Schraubenachse aus, womit jede vierte Aminosäure in der Lage ist, eine Verbindung mit den parallel liegenden Aminosäuren nach oben und unten durch ihre Kompatibilität eingehen zu können, was in Abbildung 7 zu erkennen ist. Durch diese Bindung sind alle Aminosäuren in einer Helixstruktur in der Lage Wasserstoffbrückenbindungen auszubilden, was die Stabilität dieser Sekundärstruktur begünstigt. Diese Wasserstoffbrückenbindungen besitzen keine starken Bindungskräfte, weshalb sie auch eine kurze Reichweite besitzen, verleihen der α -Helix aber ihre einzigartige Form. Desweiteren ist es möglich, dass einige polare Aminosäuren die Fähigkeit besitzen, aufgrund ihrer Seitenketten H-Brücken zu benachbarten Helixstrukturen auszubilden. Allerdings ist dies, aufgrund ihrer geringen Reichweite nur auf benachbarte Aminosäuren möglich [Dose, 1996]. Diese Verbindung kommt vorallem zwischen den Aminosäuren Serin, Threonin, Asparagin, Glutamin, Arginin und Tryptophan zu stande. In bestimmten pH-Wert Bereichen aber auch zwischen den Aminosäuren Histidin, Lysin, Tyrosin, Asparaginsäure und Glutaminsäure [Klärner, 2006].

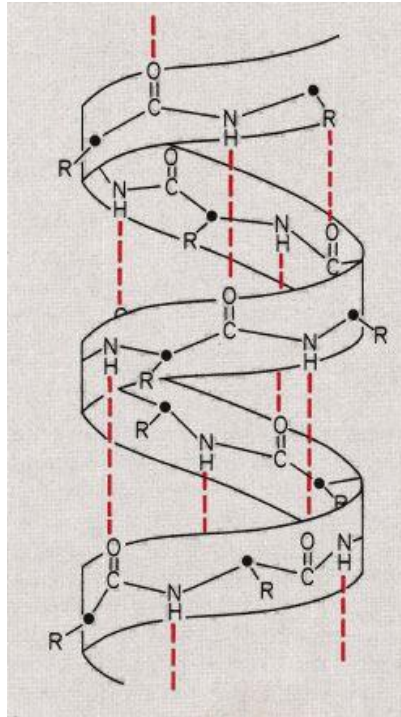


Abbildung 7: α -Helixstruktur mit Wasserstoffbrückenbindungen die eine stabilisierend Wirkung auf die Struktur haben [Karlson et al. 1994].

Hydrophobe Wechselwirkungen

Wenn zwei unpolare und ungeladene Moleküle im wässrigen Milieu aufeinander treffen, kommt es zur Zusammenlagerung dieser und zur Ausbildung sogenannter Solvathüllen. Diese Solvathüllen besitzen die Aufgabe, durch unterschiedliche Ladungsanziehung, polare Moleküle von den eingeschlossenen geladenen Teilchen zu trennen. Dies wird auch als Hydrophober Effekt bezeichnet. Ursache hierfür sind die Wassermoleküle, die mit den unpolaren Aminosäuren keine Wasserstoffbrücken bilden können. Aus diesem Grund müssen die Wassermoleküle untereinander stärkere Bindung eingehen, die sie allerdings in ihrer Beweglichkeit behindert. Dies führt dazu, dass die Unbeweglichkeit und somit auch die Unordnung der Wassermoleküle abnimmt, was laut Thermodynamik nicht sein darf. Denn der 2. Hauptsatz besagt, dass die Unordnung, auch Entropie genannt, nie abnehmen darf. Durch die Zusammenlagerung der hydrophoben Aminosäuren wird aufgrund der Oberflächenverringerung ein Teil der Wassermoleküle wieder frei beweglich, wobei die Entropie wieder zunimmt. Die Zunahme der Entropie ist

an die freie Enthalpie gekoppelt, die hierbei negativ wird. Da die negative Enthalpie für das freiwillige Ablaufen von Reaktionen steht, ist dieser Zustand gewinnbringend für die Reaktion. Bei der Proteinfaltung im wässrigen Milieu ist diese Energie ausschlaggebend für die charakteristische Faltung [Dose, 1996]. Die Ausbildung dieser Wechselwirkung findet nur zwischen hydrophoben und amphiphilen Aminosäuren statt, die in Tabelle 1 und im Anhang unter [1] dargestellt sind. Desweiteren ist über die hydrophoben Wechselwirkungen zu sagen, dass sie eine größere Reichweite besitzen als vergleichsweise andere Bindungsarten. Dies rührt daher, dass schon bei einer geringen Überlappung der Solvathüllen zweier Moleküle, eine Anziehung stattfindet und eine Bindung aufgebaut werden kann [Jeschke, 2008].

Van der Waals- Kräfte

Die Kräfte der Van der Waals Bindung, oder auch London Kräfte genannt, treten in jeder molekularen Verbindung zweier Aminosäuren auf, deren Reichweite so gering wie möglich sein muss um diese schwachen Wechselwirkungen auszubilden. Hierbei handelt es sich um eine spontane temporäre Dipolkraft, die sich zwischen allen Aminosäuren, unabhängig von ihren physischen oder chemischen Eigenschaften, ausbilden können. Bei einer synchronen Dipolausbildung zweier benachbarter Atome mit unterschiedlicher Ladungsverschiebung entsteht eine solche Verbindung, die auch destabilisierende Eigenschaften aufweisen kann, da diese Verbindung nicht von Dauer ist. Die Oberfläche dieser Atome spielt hierbei eine entscheidende Rolle, da sie, aufgrund des vergrößerten Oberflächenkontakts, die Bildung solcher Bindungskräfte begünstigen. Aus diesem Grund, nimmt die Intensität von London Kräften mit steigender Molekülgröße zu, und kann so kurzzeitig zu den stärkeren Bindungsarten gezählt werden [Kummer].

4 Verwendete Programme und Algorithmen

4.1 PDBTM

Die “Protein Data Bank of Transmembrane Proteins” oder auch kurz PDBTM genannt, enthält alle bereits bekannten Transmembranproteine sortiert nach α -Helix und β -Faltblatt Strukturen. Hierbei greift sie auf die zentrale Protein Data Bank, kurz PDB zurück, und wird mithilfe von Scans regelmäßig abgeglichen. Die vom Institut für Enzymologie in Budapest verwaltete Datenbank, enthält derzeit 1690 Transmembranproteine die jeweils in 1443 α -Helix und 236 β -Faltblatt Proteine aufgeteilt sind. Diese Daten wurden direkt von der PDB übermittelt, auf der sich zum jetzigen Zeitpunkt 83715 bekannte Proteine befinden. Für diese Arbeit sind die Ketten mit α -helicalen Transmembrankomplexen relevant. Dieser Datensatz von 1443 Proteinen enthält allerdings noch zahlreiche Wiederholungen die überflüssig sind und die Arbeit somit unnötig erschweren würde. Daher greifen wir hier auf den Datensatz der nicht redundanten Liste zurück die derzeit 334 Transmembranproteine aufzählt. In dieser Liste sind alle Aminosäuren unter ihrer PDB-ID aufgeführt und der Angabe, um welche Untereinheit es sich im Protein handelt die eine α -Helix besitzt. Diese Untereinheiten werden in der Kennnummer als Großbuchstabe hinter der eigentlichen ID angefügt. Nach diesem Prinzip steht im Beispiel 2a06-A die Nummer 2a06 für die Kennnummer des Proteins, die so in den Datenbanken erkannt wird. Das A steht hierbei für die erste Untereinheit die aus einer Helixstruktur besteht [Enzymology, 2012].

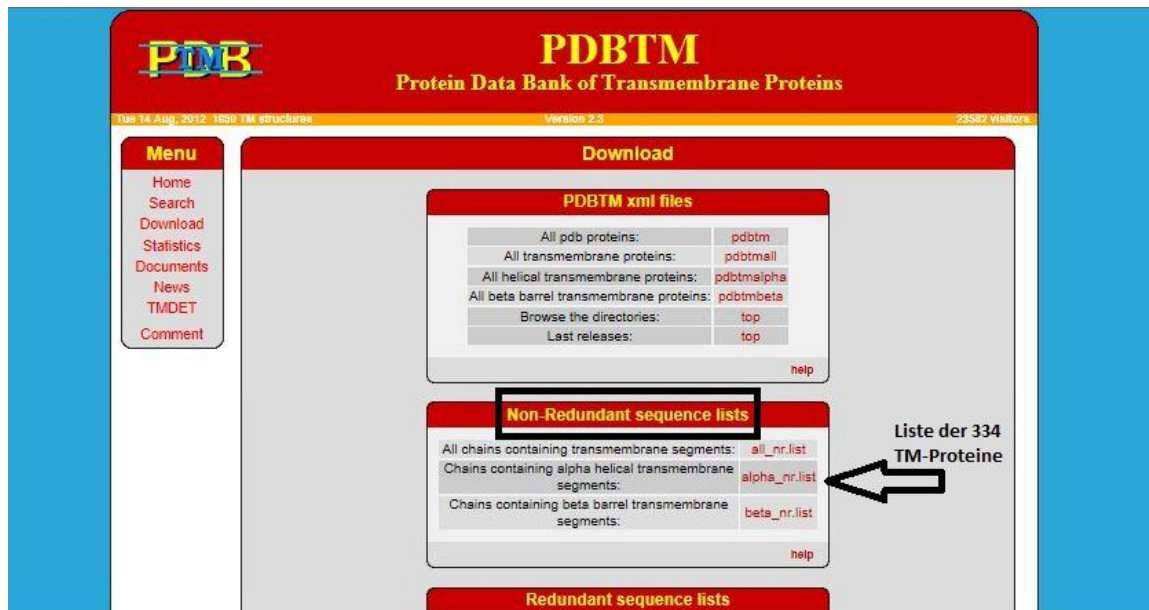


Abbildung 8: In dieser Darstellung ist die Seite der PDBTM zu erkennen. Die Liste mit den 334 verwendeten α -helicalen Transmembranproteinen, befindet sich im Download Bereich unter den „Non Redundant sequence lists“ unter „alpha_nr.list“ [Enzymology, 2012].

4.2 CSU-Analysis nach Weizmann

Die „Contacts of Structural Units“-Webseite des Weizmann Institutes in Israel, beschäftigt sich mit der Analyse der molekularen Kontakte in Proteinen. Hierbei werden die Proteine zunächst in ihre Untereinheiten getrennt wiedergegeben, um dann im nächsten Schritt die Interaktionen der einzelnen Aminosäuren in diesen Untereinheiten darzustellen. Diese Interaktionen werden in 4 Bindungsarten unterschieden:

- Wasserstoffbrückenbindungen HB
- Aromatischen Wechselwirkungen Arom
- Hydrophobe Wechselwirkungen Phob
- Hydrophobe-hydrophile Wechselwirkungen DC

Die Bewertung für diese Bindungsarten richtet sich nach dem atomaren Aufbau der Moleküle. So werden beispielsweise für die Interaktion von aromatischen Verbindungen, alle Kohlenstoffatome in diesem Molekül betrachtet, die den Benzolring ausbilden. Wenn diese Kohlenstoffatome aufgrund ihrer konjugierten Doppelbindungen einen bestimmten Winkel aufweisen, werden sie als Summe

zu den Aromaten gezählt, wobei die Interaktion als zutreffend eingestuft werden kann und mit einem „+“ versehen wird. Nach diesem Prinzip, werden auch die anderen Bindungsarten untersucht und jeweils mit einem „+“ für wahr und einem „-“ für falsch bestückt [Sobolev et al. 1999].

Legend:
 Dist - nearest distance (Å) between atoms of two residues
 Surf - contact surface area (Å²) between two residues
 HB - hydrophilic-hydrophilic contact (hydrogen bond)
 Arom - aromatic-aromatic contact
 Phob - hydrophobic-hydrophobic contact
 DC - hydrophobic-hydrophilic contact (destabilizing contact)
 +/- - indicates presence/absence of a specific contacts
 * - indicates residues forming contacts by their side chain (including CA atoms)

Residues in contact with **THR 3** (chain A).

Residue	Dist	Surf	Specific contacts			
			HB	Arom	Phob	DC
2A ALA ⁺	1.3	79.9	-	-	-	+
4A TYR ⁺	1.3	64.5	+	-	-	+
5A ALA ⁺	3.6	10.5	+	-	-	+
6A GLN ⁺	3.4	25.8	+	-	-	+
7A ALA	3.1	16.6	+	-	-	-
113B ARG ⁺	3.5	7.3	-	-	-	-
114B ASP ⁺	3.3	19.1	-	-	-	+

Abbildung 9: CSU-Analysis Seite des Weizmann Institutes. Die AS Threonin (hier gelb unterlegt in ihrem 3 Lettercode) befindet sich in der Helix an der dritten Position der ersten Peptidkette (chain A). Die Bindenden AS werden mit ihren Positionen innerhalb des Proteins, in der ersten Spalte dargestellt, gefolgt von ihrem Abstand zu Threonin und ihrer Bindungsarten (hier rot eingekreist HB, Arom, Phob, DC), die mit einem „+“ versehen sein müssen [Sobolev et al.].

4.3 Programm

Das Projekt „ResidueResidueInteraction“ wurde von Steffen Grunert zur Verfügung gestellt, um die Informationen von der CSU Seite zu erhalten und sie gezielt einzusetzen. Dieses Programm ist in der Lage, auf die Residue Tabellen dieser Seite zurückzugreifen und die Informationen der Kontakte einzeln auszugeben. Hierfür wurde eine Textdatei erstellt, in der die 334 Transmembranproteine mit ihrer PDB-ID von PDBTM hinterlegt waren, damit das Programm darauf zurückgreifen kann. Der Klasse „ResidueResidueInteractionParserImpl.java“ wurden zusätzlich einige Methoden zugefügt, damit die gewünschten Bindungsarten der Aminosäuren zwischen den beiden Bereichen unterschieden werden konnten. Anschließend

wurden alle möglichen Wechselwirkungen der Aminosäuren in den Helixstrukturen des gesamten Datensatzes gezählt.

4.4 Motivanalyse und Weblogos

Ein weit verbreitetes Problem bei der Untersuchung von Transmembranproteinen, ist die Annahme, dass die Helixstruktur in der Membran nur senkrecht zu dieser verankert ist, wie man in Abbildung 10 erkennen kann. Allerdings steht die α -Helix in der Regel geneigt in der Membran, was bedeutet, dass die Helixlänge nicht mit der Länge der Membrandicke übereinstimmt. Diese Erkenntnis erschwert die genaue Vorhersage von Transmembranen-Bereichen, da einige Programme darauf basieren, TM-Bereiche mithilfe genau definierter Helixlängen zu bestimmen [Hildebrand, 2003].

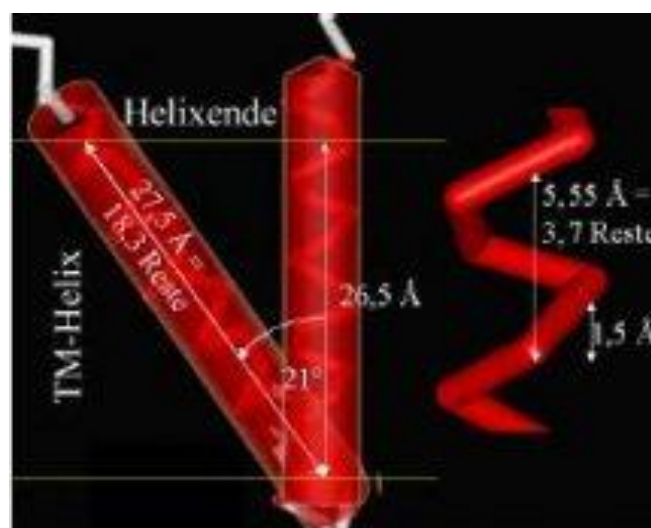


Abbildung 10: Länge einer Helixstruktur die vertikal oder geneigt in einer Membran auftreten kann. Wie hier zu erkennen ist, besitzt die geneigte Helixstruktur eine größere Helixlänge als es bei der vertikalen der Fall ist [Hildebrand, 2003].

Aus diesem Grund werden bestimmte Muster in transmembran Bereichen gesucht, deren Auftreten eindeutig ist und die, wie Mark Gerstein in seinen Untersuchungen herausfand, zahlreich in transmembranen Helixstrukturen vorzufinden sind. Diese Muster werden als reguläre Ausdrücke dargestellt, welche aus speziellen Anfangs- und Endpositionen und aus variablen Positionen dazwischen bestehen, die durch jede der 20 kanonischen

Aminosäuren ersetzt werden können. Demnach besagt der reguläre Ausdruck des Musters „AA2“, dass die Aminosäure Alanin (A) als Anfangs- und Endposition auftritt, und aus einer variablen Position in der Mitte besteht, da diese die Vorschrift $n-1$ besitzt [Gerstein et al. 2002].

Eine Suche ergab, dass die häufigsten Muster, die zwischen zwei helicalen Strukturen miteinander agieren, die Muster AA2 und AA3 darstellen. Um im späteren Verlauf die ermittelten Ergebnisse zu überprüfen, soll dieses Motiv dahingehend untersucht werden.

Um die variablen Zwischenpositionen besser bestimmen zu können, wird das Motiv im „WebLogo“ dargestellt. Dieses Visualisierungstool soll es uns ermöglichen, die Häufigkeit bestimmter Aminosäuren der gefundenen Muster zu ermitteln. Die Häufigkeit der auftretenden Aminosäuren an einer bestimmten Position ist gleichzusetzen mit der Größe der einzelnen Buchstaben an der selbigen Position [Crooks et al. 2005]. Der Buchstabe repräsentiert die Aminosäure die durch ihren Ein-Letter Code dargestellt wird. Das Weblogo für das Motiv „AA3-AA2“ ist in Abbildung 11 dargestellt, welches zu einem späteren Zeitpunkt ausführlich interpretiert wird.

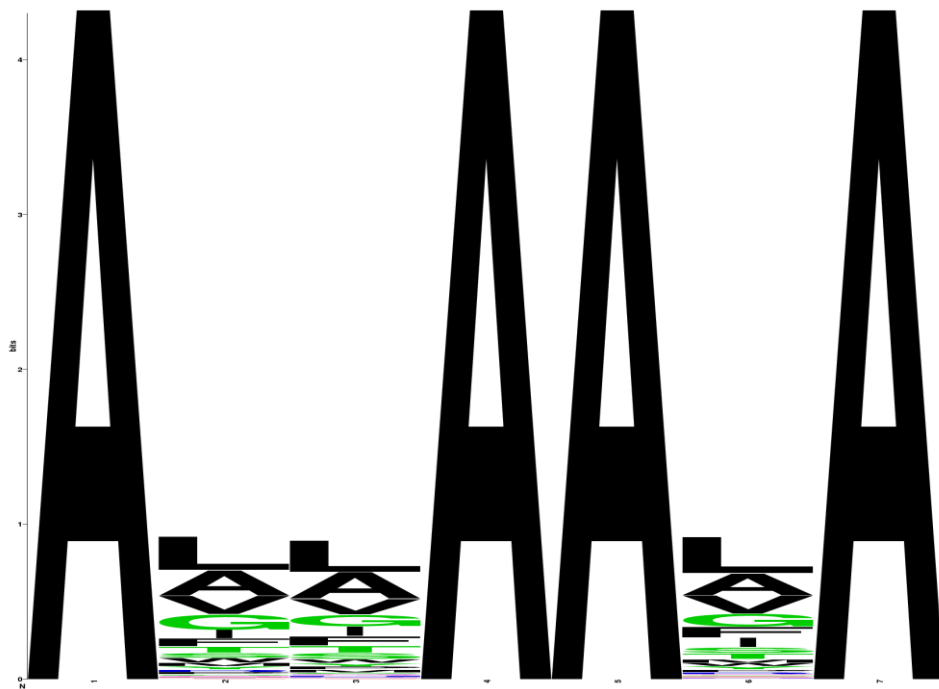


Abbildung 11: Weblogo des Motivs AA3-AA2, welches das am häufigsten Auftretende Motiv zwischen den helix Regionen ist [Garbe 2012].

5 Ergebnisse

In diesem Abschnitt werden die mit dem Programm „ResidueResidueInteraction“ erzielten Ergebnisse der 334 Transmembranproteine vorgestellt. Hierbei wird zunächst die Gesamtgröße der Interaktionen von Aminosäuren dargestellt. Anschließend werden die Ergebnisse der vier Bindungsarten, Wasserstoffbrückenbindung, Aromatische Wechselwirkungen, Hydrophobe Wechselwirkungen und Hydrophob-hydrophile Kontakte vorgestellt, die mit Hilfe der CSU-Analysis gesammelt wurden und in die Teilbereiche innerhalb der Helix und Wechselwirkung zu benachbarten Helices unterteilt wurden. Anschließend werden im nächsten Abschnitt die Resultate diskutiert und die Erkenntnisse mit Hilfe der im Fachlichen Umfeld erwähnten Kenntnisse überprüft.

5.1 Gesamtzahl aller Interaktionen im Überblick

Bei der Untersuchung von 334 Transmembranproteinen kam es zu einer Gesamtzahl von 1.987.649 Interaktionen zwischen den 20 kanonischen Aminosäuren. Die Einteilung dieser Interaktionen erfolgt, wie schon in den Methoden beschrieben, in den vier Hauptbindungsarten Wasserstoffbrückbindungen (HB), Aromatische Wechselwirkungen (Arom), Hydrophobe Wechselwirkungen (Phob) und Hydrophob-hydrophile Kontakte (DC). Wie aus der Tabelle zu entnehmen ist, sind die Hydrophob-hydrophilen Kontakte bei den Interaktionen, mit 42,94% am meisten vertreten. Dicht gefolgt von den Wasserstoffbrückenbindungen mit 29,08% und den hydrophoben Wechselwirkungen mit 25,55%, die jeweils innerhalb der Helix stärker vertreten sind als zu den Aminosäuren aus benachbarten Untereinheiten. Desweiteren kann man dieser Tabelle entnehmen, dass die aromatischen Verbindungen mit 1,42 % eher gering auftreten und mit 0,82% innerhalb der Helix und 0,61% außerhalb der eigenen Helix keine der beiden Bereiche präferiert.

Tabelle 3: Interaktionen im Überblick: In der ersten Zeile sind die gesamten Interaktionen in den untersuchten Proteinen angegeben. Darunter sind die Bindungsarte Wasserstoffbrückenbindung(HB), Aromatische Wechselwirkungen (Arom), Hydrophobe-WW(Phob) und hydrophobe-hydrophile WW (DC). In der 2. und 3. Spalte sind die Interaktionen der einzelnen WW im Verhältnis zu allen Interaktionen numerisch und prozentual angegeben. Dahinter folgt die Verteilung zwischen intern und extern zur Helix, die Prozentual angegeben ist.

Gesamte Interaktionen:			1.987.649	
WW	Gesamt	%	Innerhalb der Helix in %	Außerhalb der Helix in %
HB	578.157	29,08	25,95	3,14
Arom	28.296	1,42	0,82	0,61
Phob	507.867	25,55	18,476	7,07
DC	873.329	42,94	37,25	6,68

5.2 Die Wasserstoffbrückenbindungen

5.2.1 Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Aminosäuren innerhalb der Helix

In der Tabelle [2], die im Anhang zu finden ist, sind alle Wasserstoffbrückenbindungen, die innerhalb der 20 kanonischen Aminosäuren aufgetreten sind, vergleichend gegenübergestellt. Diese Tabelle zeigt eine gleichmäßige Verteilung auf alle Aminosäuren für polare Aminosäuren, die in der Lage sind, durch Seitenketten Wasserstoffbrückenbindungen einzugehen, als auch unpolare Aminosäuren. Die sechs signifikantesten der 20 Aminosäure sind mit ihren Reaktionspartnern in Tabelle 4 dargestellt. Besonders auffällig sind hier die unpolaren Aminosäuren Alanin (A), mit insgesamt 51.651 Interaktionen, Isoleucin (I) mit 46.148, sowie die Aminosäuren Leucin (L) und Phenylalanin (F) mit insgesamt 66.903 und 42.711 Interaktionen, die somit die meisten Wasserstoffbrückenbindungen innerhalb der Helix ausbilden. Im Vergleich dazu, tritt Prolin (P) mit nur 9.305 Interaktionen sowie die schwefelhaltige Aminosäure Cystein (C) mit nur 7.824 Interaktionen untereinander relativ gering auf.

Tabelle 4: Ein Auszug der Interaktionen von H-Brücken, die sich zwischen den 20 kanonischen AS innerhalb der Helix ausbilden können. Die AS sind als Ein Letter Code dargestellt. Die ausführliche Tabelle ist im Anhang unter [2] zu finden.

	A	C	I	L	F	P
A	2.295	1.015	1.826	7.097	5.157	342
C	196	85	234	295	153	34
I	1.623	1.015	4.340	2.791	951	524
L	5.092	1.015	4.340	3.125	5.157	982
F	4.229	258	3.713	7.097	2.050	504
P	227	74	3.713	4.038	326	342
Gesamt	51.651	7.824	46.148	66.903	42.711	9.305

5.2.2 Wasserstoffbindungen zwischen Aminosäuren benachbarter Helices

Bei den Wasserstoffbrückenbindungen zu angrenzenden Peptidketten, fallen die Interaktionen der Aminosäuren deutlich geringer aus, wie man der Tabelle [3] im Anhang entnehmen kann. Im Vergleich zu den H-Brücken innerhalb der Helix, die hier zu 89,22% auftreten, sind es bei den Wechselwirkungen zu den externen Helices nur 10,77%. Desweiteren ist auffällig, dass hier die polaren Aminosäuren signifikant häufiger vertreten sind, als es bei den internen Wechselwirkungen der Fall ist. Dies ist in Tabelle 5 zu erkennen, bei der die Aminosäure Arginin (R) mit 8.019 Interaktionen deutlich hervorsticht, dicht gefolgt von Asparagin (N) mit 4.290 Wechselwirkungen, Serin (S) und Threonin (T) mit 3.757 und 3.930 Interaktionen. Gleichbleibend zu den Interaktionen innerhalb der Helix sind hier die Aminosäuren Cystein (C) und Prolin (P) die mit 549 und 637 Wechselwirkungen eher gering in den 334 untersuchten Proteinen ausfallen.

Tabelle 5: Ein Auszug der Interaktionen von H-Brücken, die sich zwischen den 20 kanonischen AS Helices übergreifend ausbilden können. Die AS sind als Ein Letter Code dargestellt. Die ausführliche Tabelle ist im Anhang unter [3] zu finden.

	R	N	C	P	S	T
R	619	460	26	25	486	121
N	531	460	54	71	241	450
C	23	15	20	32	12	21
P	619	87	20	0	18	450
S	619	460	43	71	486	450
T	89	460	43	27	109	154
Gesamt	8.019	4.290	549	637	3.757	3.930

5.3 Die aromatischen Wechselwirkungen

5.3.1 Aromatische Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren innerhalb der Helix

Bei den aromatischen Wechselwirkungen ist deutlich zu erkennen, dass die Interaktionen nur bei den aromatischen Aminosäuren Histidin (H), Phenylalanin (F), Tryptophan (W) und Tyrosin (Y) auftreten (Tabelle 6), wo hingegen bei allen anderen Aminosäuren keine Wechselwirkungen auftreten. Desweiteren ist Phenylalanin beim internen Ranking mit 7.542 Interaktionen am meisten vertreten und geht die häufigste aromatische Verbindung mit sich selbst ein, wie in Tabelle dargestellt ist. Histidin (H) hingegen geht mit 1.129 deutlich weniger Verbindungen zu den anderen Aromaten ein. Die übrigen 16 Aminosäuren hingegen, können keine aromatischen Wechselwirkungen ausbilden. Nur einzelne Aminosäuren, wie beispielsweise die negativ geladene Aminosäure Arginin (R), können teilweise Bindungen mit den 4 aromatischen Aminosäuren eingehen.

Tabelle 6: Ein Auszug der Interaktionen von aromatischen WW, die sich zwischen den 20 kanonischen AS innerhalb der Helix ausbilden können. Die AS sind als Ein Letter Code dargestellt. Die ausführliche Tabelle ist im Anhang unter [4] zu finden.

	H	F	W	Y	R
A	0	0	0	506	0
R	0	0	214	0	0
N	246	0	214	0	0
D	0	131	214	0	0
C	0	0	0	0	0
Q	0	1.565	0	0	0
E	0	0	0	0	0
G	0	0	0	506	0
H	85	131	69	342	0
I	0	0	0	0	0
L	0	0	0	506	0
K	0	0	214	506	0
M	102	1.565	0	342	0
F	246	1.565	651	506	0
P	102	0	0	0	0
S	0	0	214	506	0
T	0	1.565	0	506	0
W	246	457	651	342	0
Y	102	563	214	331	0
V	0	0	0	0	0
Gesamt	1.129	7.542	2.655	4.899	0

5.3.2 Aromatische Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren benachbarter Helices

Für die aromatischen Wechselwirkungen zu benachbarten Helices konnten keine großen Abweichungen von den internen festgestellt werden. Die aromatischen Aminosäuren bestreiten auch hier die alleinigen Interaktionen. Mit insgesamt 12.071 aromatischen Wechselwirkungen untereinander, liegen sie nur knapp hinter den Resultaten der internen Helix-Interaktionen mit 16.225. Desweiteren ist der Tabelle 7 im Anhang zu entnehmen, dass Phenylalanin (F) auch hier als signifikante Aminosäure mit 7.495 Wechselwirkungen hervorgeht, die im Vergleich zu Tryptophan (W) und Tyrosin (Y) mit nur 1.698 und 2.112 Interaktionen, wieder stark vertreten ist. Histidin (H) hat im Vergleich dazu die wenigsten aromatischen Wechselwirkungen und liegt mit 766 aromatischen Verbindungen unter dem Durchschnitt. Ebenfalls aus der Tabelle zu

entnehmen, sind die sporadisch auftretenden Reaktionen der vier aromatischen Aminosäuren mit den geladenen Aminosäuren. So kommt es auch hier zu vereinzelt Interaktionen mit der negativ geladenen Aminosäure Arginin (R), die in der Tabelle X mit Phenylalanin 809 aromatische Interaktionen in den 334 untersuchten Transmembranproteinen eingehen kann.

Tabelle 7: Ein Auszug der Interaktionen von aromatischen WW, die sich zwischen den 20 kanonischen AS Helices übergreifend ausbilden können. Die AS sind als Ein Letter Code dargestellt. Die ausführliche Tabelle ist im Anhang unter [5] zu finden.

	H	F	W	Y	R
A	0	227	243	481	0
R	101	809	0	0	0
N	101	0	0	0	0
D	101	809	0	0	0
C	0	809	0	0	0
Q	0	231	0	481	0
E	0	231	0	0	0
G	0	0	0	44	0
H	101	809	37	44	0
I	0	0	37	0	0
L	0	227	205	0	0
K	0	809	0	0	0
M	28	0	243	0	0
F	52	809	243	481	0
P	52	231	37	0	0
S	0	809	0	0	0
T	0	0	0	0	0
W	28	227	205	100	0
Y	101	231	205	481	0
V	101	227	243	0	0
Gesamt	766	7.495	1.698	2.112	0

5.4 Die Hydrophoben Wechselwirkungen

5.4.1 Hydrophobe Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren innerhalb der Helix

Die Ergebnisse der hydrophoben Wechselwirkungen sind in diesen Transmembranproteinen ebenso häufig vertreten, mit 25,55%, wie die Wasserstoffbrückenbindungen mit einem Interaktionswert von 29,08%. Auch das Verhältnis zwischen den Interaktionen innerhalb einer Helix und zu benachbarten Helices ist analog zu den Verbindungen der Wasserstoffbrücken, mit 72,32% innerhalb und mit 27,68% übergreifend zu Aminosäuren anderer Untereinheiten. Auffallend hierbei sind die hydrophoben Aminosäuren Isoleucin (I) und Leucin (L), die wie in Tabelle 8 gezeigt wird, eine äußerst hohe Relevanz in diesem Bereich aufweisen. Mit 60.104 Interaktionen für Isoleucin und 68.601 Interaktionen für Leucin, liegen diese Werte deutlich über dem Durchschnitt, wie die Aminosäure Glutamat (E) mit 8.256 hydrophoben Wechselwirkungen zeigt. Deutlich geringer tritt die hydrophile Aminosäure Asparat (D) mit 2.938 Interaktionen zwischen den Aminosäuren auf, während die Aminosäuren Glycin (G) und Serin (S) keine hydrophoben Wechselwirkungen besitzen.

Tabelle 8: Ein Auszug der Interaktionen von hydrophoben WW, die sich zwischen den 20 kanonischen AS innerhalb der Helix ausbilden können. Die AS sind als Ein Letter Code dargestellt. Die ausführliche Tabelle ist im Anhang unter [6] zu finden.

	D	E	G	I	L	S
D	130	50	0	951	3.967	0
E	308	486	0	1.682	644	0
G	83	0	0	5.108	6.151	0
I	153	484	0	6.288	3.967	0
L	308	952	0	6.288	5.279	0
S	153	486	0	6.288	4.274	0
Gesamt	2.938	8.256	0	60.104	68.601	0

5.4.2 Hydrophobe Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren benachbarter Helices

Im Hinblick auf die Ergebnisse der internen Wechselwirkungen, sind die hydrophoben Interaktionen zu angrenzenden Peptidketten deutlich geringer vertreten, wie man der Tabelle 9 entnehmen kann. Die meisten Interaktionen finden wie auch schon in 5.4.1 beschrieben, bei den Aminosäuren Isoleucin (I) und Leucin (L) mit Reaktionswerten von 25.674 und 33.938 statt. Gleichbleibend sind desweiteren die Ergebnisse von Asparaginsäure (D) mit 876 Interaktionen, sowie Glycin (G) und Serin(S), die wie schon bei den hydrophoben Wechselwirkungen innerhalb der Helix zu erkennen war, gar nicht enthalten sind. Ein Unterschied zu Reaktionsverteilung tritt bei der Aminosäure Glutamat (E) auf, die mit einem Interaktionswert von 1.452 deutlich unter dem durchschnittlichen Ertrag der hydrophoben Wechselwirkungen liegt, wie aus der Tabelle X im Anhang zu entnehmen ist.

Tabelle 9: Ein Auszug der Interaktionen von hydrophoben WW, die sich zwischen den 20 kanonischen AS Helices übergreifend ausbilden können. Die AS sind als Ein Letter Code dargestellt. Die ausführliche Tabelle ist im Anhang unter [7] zu finden.

	D	E	G	I	L	S
D	3	49	0	1.326	193	0
E	47	22	0	1.326	125	0
G	91	67	0	38	0	0
I	91	82	0	1.847	4.584	0
L	59	129	0	1.326	2.026	0
S	47	49	0	0	193	0
Gesamt	876	1.452	0	25.674	33.938	0

5.5 Die Hydrophob-hydrophile Kontakte

5.5.1 Hydrophob-hydrophile Kontakte zwischen Aminosäuren innerhalb der Helix

Die Ergebnisse der hydrophobe-hydrophilen Kontakte sind mit einem prozentualen Anteil von 42,94%, die am häufigsten auftretenden Interaktionen innerhalb der untersuchten Transmembranproteine und treten in allen Aminosäuren kontinuierlich auf. Besonders stark vertreten sind hierbei die hydrophoben Aminosäuren Leucin (L) mit 107.887 Interaktionen, Isoleucin (I) mit 78.623 Kontakten und Phenylalanin (F) mit insgesamt 58.350 Interaktionen. Im Vergleich dazu, kommen Interaktionen unter den Aminosäuren Cystein (C) und Arginin (R) seltener zustande, wie aus der Tabelle 10 zu entnehmen ist.

Tabelle 10: Ein Auszug der Interaktionen von hydrophobe-hydrophilen Kontakten, die sich zwischen den 20 kanonischen AS innerhalb der Helix ausbilden können. Die AS sind als Ein Letter Code dargestellt. Die ausführliche Tabelle ist im Anhang unter [8] zu finden

	R	C	I	L	F
R	3.460	1.522	3.310	7.018	7.011
C	491	126	327	428	187
I	607	1.522	7.242	4.681	1.494
L	3.460	1.522	7.242	5.175	7.011
F	2.027	365	6.344	10.802	2.655
Gesamt	34.800	11.596	78.623	107.887	58.350

5.5.2 Hydrophob-hydrophile Kontakte zwischen Aminosäuren benachbarter Helices

Im direkten Vergleich zu den internen helicalen Kontakten ist festzustellen, dass die Interaktionen auch hier zu allen 20 kanonischen Aminosäuren ausgebildet werden können. Dies betrifft auch hier die Aminosäuren Isoleucin und Leucin die mit 14.621 und 19.117 Interaktionen am häufigsten enthalten sind (Tabelle 11). Auch die Aminosäure Arginin ist bei der Ausbildung von Wechselwirkungen zu benachbarten Helices mit 11.876 Interaktionen sehr oft vertreten. Im Vergleich dazu ist die Aminosäure Cystein mit einer Interaktionsrate von 1.296 eher selten an Interaktionen beteiligt.

Tabelle 11: Ein Auszug der Interaktionen von hydrophobe-hydrophilen Kontakten, die sich zwischen den 20 kanonischen AS Helices übergreifend ausbilden können. Die AS sind als Ein Letter Code dargestellt. Die ausführliche Tabelle ist im Anhang unter [9] zu finden.

	R	C	I	L	F
R	813	28	1195	905	441
C	24	102	278	261	441
I	904	99	1195	1.807	241
L	904	99	696	836	591
F	813	64	814	1.807	441
Gesamt	11.876	1.296	14.621	19.117	7.482

6 Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es, die Bedeutung der Aminosäuren in der helicalen Struktur der 334 Transmembranproteine, aufgrund ihrer physiko-chemischen Eigenschaften und ihrer Bindungskräfte zu analysieren. Dies diente dem Zweck, bedeutende Informationen über die Struktur zu bekommen und um Grundlagen zu schaffen, die bei weiterer Strukturforschung von großem Nutzen sein können. Mit Hilfe des fachlichen Wissens und der Information der Weizmann CSU Analyse, sollen die Bindungsarten einmal näher durchleuchtet werden. Da die Resultate im letzten Abschnitt stark durchwachsen sind und ein unübersichtliches Erscheinungsbild aufweisen, wird im folgenden Abschnitt gezielt auf die verschiedenen Bindungsarten eingegangen um ein besseres Verständnis gegenüber den möglichen Wechselwirkungen zwischen den Aminosäuren zu erhalten.

6.1 Die Wasserstoffbrückenbindungen

6.1.1 Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Aminosäuren innerhalb der Helix

Die Wasserstoffbrückenbindungen sind Wechselwirkungen die sich zwischen polaren Aminosäuren ausbilden können. Zu ihnen werden die Aminosäuren Serin (S), Threonin (T), Asparagin (N), Glutamin (Q), Arginin (R), Tryptophan (W), Histidin (H), Lysin (K), Tyrosin (Y), Asparaginsäure (D) und Glutaminsäure (E) gezählt. Diese elf Aminosäuren sind in der Lage, über ihre Seitenketten als Donator und Akzeptor zu fungieren und über ein kovalentes Wasserstoffatom eine Bindung einzugehen. Dieses Wissen spiegelt sich allerdings nicht in den Ergebnissen für die internen Wechselwirkungen der Helix wieder, in der alle Aminosäuren miteinander korrelieren und Wasserstoffbrückenbindungen eingehen können, wie in der Tabelle [2] im Anhang zu sehen ist. Dies ist besonders auffallend zwischen den Aminosäuren Alanin (A), Isoleucin (I) und Leucin (L), die als unpolare Aminosäuren die meisten Interaktionen eingehen (Tabelle 12). Zu erklären ist dies, aufgrund des im fachlichen Umfeld unter 3.4 beschriebenen Verhaltens von Aminosäuren in einer Helixstruktur. Hierbei sind

Aminosäuren in einer sekundären Helixstruktur in der Lage, durch ihre Hauptketten Wasserstoffbrückenbindungen zu benachbarten Aminosäuren vertikal auszubilden. Dies geschieht über die Carboxyl- und Aminogruppe einer jeden Aminosäure und sorgt innerhalb der Helix für Stabilität. Durch diese Interaktion wird die gleichmäßige Verteilung der Wasserstoffbrücken zwischen den Aminosäuren gerechtfertigt. Hierbei ist zu vermuten, dass die hydrophilen Aminosäuren Alanin (A), Leucin (L) und Isoleucin (I), aufgrund ihrer relativ kleinen Größe und nicht ihrer Hydrophobizität, gehäuft in transmembranen Helixstrukturen vorzufinden sind.

Die Aminosäuren Arginin (R), Asparagin (N) und Tyrosin (Y) dagegen, die Wasserstoffbrücken durch ihre Seitenketten ausbilden können, gehen innerhalb der Helix weniger Interaktionen ein, was zur Annahme führt, dass dies für die Helixstabilität von geringerer Bedeutung zu sein scheint. Desweiteren haben die Resultate aus 5.1 ergeben, dass die Aminosäuren Cystein (C) und Prolin (P) die geringsten Interaktionen eingehen. Diese Beobachtung ist damit zu erklären, das Cystein für die Ausbildung von Disulfidbrücken zuständig ist und gleichzeitig keine Wasserstoffbrückenbindungen bilden kann. Prolin tritt ebenfalls gering in einer Helixstruktur auf, da es als Helixbrecher fungiert.

Tabelle 12: Ein Auszug der Interaktionen von Wasserstoffbrückenbindungen, die sich zwischen den 20 kanonischen AS innerhalb der Helix ausbilden können. Die AS sind als Ein Letter Code dargestellt. Die ausführliche Tabelle ist im Anhang unter [2] zu finden.

	A	C	I	L	R	P	N	Y
A	2.295	1.015	1.826	7.097	1.474	342	1.761	3.031
C	196	85	234	295	406	34	67	243
I	1.623	1.015	4.340	2.791	362	524	335	667
L	5.092	1.015	4.340	3.125	2.353	982	510	3.031
R	4.229	1.015	1.826	4.038	2.353	982	563	286
P	227	74	3.713	4.038	2.353	342	563	90
N	431	74	290	487	266	524	572	884
Y	5.092	113	3.713	7.097	2.353	409	1.761	308
Gesamt	51.651	7.824	46.148	66.903	24.837	342	15.782	27.867

6.1.2 Wasserstoffbindungen zwischen Aminosäuren benachbarter Helices

Die Wasserstoffbrückenbindungen zu angrenzenden Helixstrukturen fallen zahlenmäßig geringer aus, als es bei den internen Interaktionen der Fall ist. Diese Tatsache kann man aus der Tabelle 3 entnehmen, bei der die externen Interaktionen zahlenmäßig mit nur 3,14% deutlich hinter den internen Wechselwirkungen von 25,95% liegen, die aus den Wasserstoffbrückenbindungen ihrer Hauptbindungen herrühren. Diese 3,14% lassen sich damit begründen, dass Wasserstoffbrückenbindungen für ihre Ausbildung nur eine geringe Reichweite besitzen, aber für eine Bindung zwischen verschiedenen Polypeptidketten eine größere Entfernung bestreiten müssen. Desweiteren fallen hierbei die Interaktionen zur Helixstabilisierung zwischen den Hauptbindungen der Aminosäuren weg, die sich intern zwischen jeder vierten Aminosäure vertikal ausbilden können. Diese Tatsachen spiegeln sich auch in den Interaktionshäufigkeiten der Aminosäuren wieder. So kommt es hierbei zu vermehrten Interaktionen bei den polaren Aminosäuren Arginin (R), Asparagin (N) und Tyrosin (Y), die mit 8.019, 4.290 und 4.661 Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Helices am meisten vertreten sind, wie in Tabelle 13 zu sehen ist. Die Tatsache, dass unpolare Aminosäuren wie Alanin (A) mit 3.497, Isoleucin (I) mit 3.393 und Leucin (L) mit insgesamt 5.166 Interaktionen immer noch häufig enthalten sind, kann damit begründet werden, dass die Polypeptidketten dieser Interaktionen eine geringe Reichweite besitzen, weshalb hierbei Interaktionen über die Hauptbindungen durch die Carboxylgruppe einer Aminosäure und der Aminogruppe einer zweiten Aminosäure zu anderen Peptidketten entstehen können. Ein ähnliches Ergebnis ergibt sich bei den Aminosäuren Cystein (C) und Prolin (P), die mit 549 und 637 auch extern die geringsten Wasserstoffbrückenbindungen in den 334 untersuchten Transmembranproteinen ausbilden können.

Tabelle 13: Ein Auszug der Interaktionen von Wasserstoffbrückenbindungen, die sich zwischen den 20 kanonischen AS Helices übergreifend ausbilden können. Die AS sind als Ein Letter Code dargestellt. Die ausführliche Tabelle ist im Anhang unter [3] zu finden.

	A	C	I	L	R	P	N	Y
A	116	43	305	105	86	32	185	318
C	15	20	82	125	23	32	15	25
I	65	24	305	452	531	21	460	419
L	132	24	148	170	531	21	185	419
R	373	26	305	337	619	25	96	205
P	244	20	144	144	619	0	87	419
N	244	54	51	144	531	71	460	101
Y	86	20	305	93	531	71	87	318
Gesamt	3.497	549	3.393	5.166	8.019	637	4.290	4.661

6.2 Die Aromatischen Wechselwirkungen

6.2.1 Aromatische Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren innerhalb der Helix

Eine aromatische Verbindung kann nur entstehen, wenn zwei Benzolringe der Aminosäuren Phenylalanin (F), Histidin (H), Tryptophan (W) oder Tyrosin (Y) miteinander agieren. Aus diesem Grund sind auch nur diese vier Aminosäuren in der Lage Interaktionen einzugehen, was in Tabelle X daran zu erkennen ist, dass keine der verbliebenen 16 Aminosäuren Wechselwirkungen eingeht. Desweiteren ist es möglich, dass sich Bindungen zwischen Aromaten und geladenen Aminosäuren ausbilden können. Diese Bindungen entstehen zwischen den vier Aromaten und den positiv geladenen Aminosäuren Arginin (R) sowie Lysin(K) und wird als Kation- π Wechselwirkung bezeichnet, wie in Tabelle 14 zu beobachten ist, zwischen Tryptophan und Arginin. Darüber hinaus können diese Aromaten auch Wechselwirkungen mit den negativ geladenen Aminosäuren wie Asparat (D) und Glutamat (E) eingehen, wie beispielsweise Phenylalanin und Aspartat. Der Umstand, dass bei dieser Auswertung auch Interaktionen zwischen Aromaten und ungeladen

Aminosäuren entstehen, wie beispielsweise zwischen Alanin(A) und Tyrosin, beruht auf der Tatsache, dass Aminosäuren in bestimmten pH-Wert Bereichen in der Lage sind als Zwitterionen aufzutreten.

Tabelle 14: Ein Auszug der Interaktionen von aromatischen WW, die sich zwischen den 20 kanonischen AS innerhalb der Helix ausbilden können. Die AS sind als Ein Letter Code dargestellt. Die ausführliche Tabelle ist im Anhang unter [4] zu finden.

	H	F	W	Y	R
A	0	0	0	506	0
R	0	0	214	0	0
N	246	0	214	0	0
D	0	131	214	0	0
C	0	0	0	0	0
Q	0	1.565	0	0	0
E	0	0	0	0	0
G	0	0	0	506	0
H	85	131	69	342	0
I	0	0	0	0	0
L	0	0	0	506	0
K	0	0	214	506	0
M	102	1.565	0	342	0
F	246	1.565	651	506	0
P	102	0	0	0	0
S	0	0	214	506	0
T	0	1.565	0	506	0
W	246	457	651	342	0
Y	102	563	214	331	0
V	0	0	0	0	0
Gesamt	1.129	7.542	2.655	4.899	0

6.2.2 Aromatische Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren benachbarter Helices

Bei den aromatischen Wechselwirkungen außerhalb der inneren Helix verhält es sich ähnlich. Auch hier sind nur die vier aromatischen Aminosäuren an den Interaktionen beteiligt, die analog zu den internen Wechselwirkungen annähernd gleich verteilt auftreten, wie in der Tabelle 15 zu erkennen ist. Dies ist schon an der prozentualen Verteilung der beiden Resultate zu erkennen, die

mit 0,82% intern und 0,61% außerhalb der eigenen Helix vertreten sind (Tabelle 3). Dieses Ergebnis führt zu der Annahme, dass die aromatischen Verbindungen eine größere Reichweite besitzen, als die Wasserstoffbrückenbindungen. Die prozentuale Verteilung macht weiterhin deutlich, dass die aromatischen Verbindungen mit 1,42% im Hinblick auf andere Bindungsarten wie der Wasserstoffbrückenbindungen mit 29,08% eher gering ausfallen. Dieses Resultat ist einerseits auf die vergleichsweise geringen Interaktionen zurückzuführen, die durch die vier Aminosäuren entstehen, andererseits kommt der Verdacht auf, dass die aromatischen Verbindungen im direkten Vergleich zu den H-Brücken einen geringen Beitrag zur Stabilität und Form der Proteine beisteuern.

Tabelle 15: Ein Auszug der Interaktionen von aromatische WW, die sich zwischen den 20 kanonischen AS Helices übergreifend ausbilden können. Die AS sind als Ein Letter Code dargestellt. Die ausführliche Tabelle ist im Anhang unter [5] zu finden.

	H	F	W	Y	R
A	0	227	243	481	0
R	101	809	0	0	0
N	101	0	0	0	0
D	101	809	0	0	0
C	0	809	0	0	0
Q	0	231	0	481	0
E	0	231	0	0	0
G	0	0	0	44	0
H	101	809	37	44	0
I	0	0	37	0	0
L	0	227	205	0	0
K	0	809	0	0	0
M	28	0	243	0	0
F	52	809	243	481	0
P	52	231	37	0	0
S	0	809	0	0	0
T	0	0	0	0	0
W	28	227	205	100	0
Y	101	231	205	481	0
V	101	227	243	0	0
Gesamt	766	7.495	1.698	2.112	0

6.3 Die Hydrophoben Wechselwirkungen

6.3.1 Hydrophobe Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren innerhalb der Helix

Bei den hydrophoben Wechselwirkungen innerhalb einer Helix sind wie erwartet die hydrophoben Aminosäuren Alanin (A), Isoleucin (I), Leucin (L), Phenylalanin (F) und Valin (V) am stärksten vertreten. Diese Interaktionen haben hierbei die höchsten Werte und beschreiben somit das Prinzip dieser Bindung, Wechselwirkungen zwischen zwei hydrophoben Aminosäuren auszubilden. Irritierend hierbei sind die Interaktionen der hydrophilen Aminosäuren die hier auf den ersten Blick gehäuft vorzufinden sind. Allerdings lässt sich dies mit Hilfe der amphiphilen Eigenschaften einiger Aminosäuren erklären, die sowohl in hydrophilen als auch in hydrophoben Bereichen gleichzeitig existieren können. Zu diesen Aminosäuren zählen Lysin (K), Arginin (R), Histidin (H), Glutamat (E), Glutamin (Q), Tryptophan (W) und Tyrosin (Y), die allesamt durchschnittlich oft an hydrophoben Wechselwirkungen beteiligt sind, wie in Tabelle [6] im Anhang zu sehen ist. Da amphiphile Aminosäuren sowohl in wasserlöslichen als auch in wasserunlöslichen Bereichen gleichzeitig existieren können, liegt hierbei die Vermutung nahe, dass sich diese Aminosäuren in den transition-Regionen befinden. Nach der Einteilung der amphiphilen Aminosäuren, sind die beständigen hydrophilen Aminosäuren, Asparagin (N), Asparaginsäure (D), Prolin (P), Serin (S), und Glycin (G), selten bis gar nicht, wie Glycin und Serin an hydrophoben Wechselwirkungen in Tabelle 16 zeigen, beteiligt.

Tabelle 16: Ein Auszug der Interaktionen von hydrophoben WW, die sich zwischen den 20 kanonischen AS innerhalb der Helix ausbilden können. Die AS sind als Ein Letter Code dargestellt. Die ausführliche Tabelle ist im Anhang unter [6] zu finden.

	D	E	G	I	L	S
D	130	50	0	951	3.967	0
E	308	486	0	1.682	644	0
G	83	0	0	5.108	6.151	0
I	153	484	0	6.288	3.967	0
L	308	952	0	6.288	5.279	0
S	153	486	0	6.288	4.274	0
Gesamt	2.938	8.256	0	60.104	68.601	0

6.3.2 Hydrophobe Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren benachbarter Helices

Die hydrophoben Wechselwirkungen sind in den untersuchten Transmembranproteinen mit 25,55% ähnlich stark vertreten wie die Wasserstoffbrückenbindungen. Einziger Unterschied hierbei ist die prozentuale Verteilung der Interaktionen zwischen den Bereichen innerhalb der Helix und zu benachbarten Helices. Mit 7,07% für Interaktionen außerhalb der eigenen Helix, liegt dieser Wert deutlich über den der Wasserstoffbrückenbindungen, die in diesem Bereich bei 3,14 % der gesamten Interaktionen liegen. Dieses Ergebnis bestätigt den Umstand, dass die hydrophoben Wechselwirkungen eine größere Reichweite als die Wasserstoffbrückenbindungen besitzen, wie in 3.4.2 erklärt wurde. Dies führt zu der Behauptung, dass die Hydrophoben Wechselwirkungen zu benachbarten Helices, einen entscheidenden Beitrag zur individuellen Form dieser Transmembranproteine beisteuern, da sie auch weite Entfernungen zu benachbarten Polypeptidketten eingehen können, umso die gewünschte Stabilität aufrecht zu erhalten. Die Verteilung der einzelnen Interaktionen bestätigt diese Annahme, da die Aminosäure Leucin (L), und auch Isoleucin (I) mit 33.938 und 25.674 Wechselwirkungen, die meisten Verbindungen zu benachbarten Helices besitzen, die unter allen untersuchten Bindungsarten zwischen den Aminosäuren möglich sind.

Tabelle 17: Ein Auszug der Interaktionen von hydrophoben WW, die sich zwischen den 20 kanonischen AS Helices übergreifend ausbilden können. Die AS sind als Ein Letter Code dargestellt. Die ausführliche Tabelle ist im Anhang unter [7] zu finden.

	D	E	G	I	L	S
D	3	49	0	1.326	193	0
E	47	22	0	1.326	125	0
G	91	67	0	38	0	0
I	91	82	0	1.847	4.584	0
L	59	129	0	1.326	2.026	0
S	47	49	0	0	193	0
Gesamt	876	1.452	0	25.674	33.938	0

6.4 Die Hydrophob-hydrophile Kontakte

6.4.1 Hydrophob-hydrophile Kontakte zwischen Aminosäuren innerhalb der Helix

Die Wechselwirkungen die auf der CSU Seite vom Weizman Institut unter DC aufgeführt sind, sollen die Interaktionen zwischen hydrophilen und hydrophoben Aminosäuren darstellen. Da bei den Resultaten dieser Analyse alle Aminosäuren in der Lage sind, hydrophile-hydrophobe Wechselwirkungen auszubilden, liegt die Vermutung nahe, dass es sich hierbei um die Van der Waals Kräfte handeln muss, die spontan in allen Aminosäuren aufgrund spontaner Dipolausbildung entstehen können. Eine solche Verbindung ist terminal begrenzt und kann aus diesem Grund auch eine destabilisierende Wirkung auf das Protein ausüben. Diese Kontakte treten besonders häufig in den Aminosäuren Leucin (L) und Isoleucin (I) auf, was damit zu begründen ist, dass diese Aminosäuren aufgrund ihres hydrophoben und unpolaren Charakters gehäuft in den transmembranen Strukturen enthalten sind und somit auch vermehrt Interaktionen eingehen können. Die Aminosäure Cystein (C) ist verhältnismäßig gering bei diesen Interaktionen enthalten, wie in der Tabelle 18 zu sehen ist. Diese Tatsache rührt daher, dass Cystein eine schwefelhaltige

Aminosäure ist, die untereinander Disulfidbrücken ausbilden kann und somit für weitere Interaktionen nicht in Frage kommt.

Tabelle 18: Ein Auszug der Interaktionen von hydrophobe-hydrophilen Kontakten, die sich zwischen den 20 kanonischen AS innerhalb der Helix ausbilden können. Die AS sind als Ein Letter Code dargestellt. Die ausführliche Tabelle ist im Anhang unter [8] zu finden

	R	C	I	L	F
R	3.460	1.522	3.310	7.018	7.011
C	491	126	327	428	187
I	607	1.522	7.242	4.681	1.494
L	3.460	1.522	7.242	5.175	7.011
F	2.027	365	6.344	10.802	2.655
Gesamt	34.800	11.596	78.623	107.887	58.350

6.4.2 Hydrophob-hydrophile Kontakte zwischen Aminosäuren benachbarter Helices

Wie schon bei den internen DC-Kontakten festgestellt wurde, treten diese Verbindungen in allen Aminosäuren gleichmäßig auf und können auch zu Aminosäuren anderer Polypeptidketten hydrophob-hydrophile Kontakte eingehen, wie die Tabelle im Anhang zeigt. Auch hier sind die Aminosäuren Isoleucin und Leucin und Phenylalanin am häufigsten vertreten, während Cystein weiterhin eher selten zu diesen Interaktionen fähig ist. Der einzige Unterschied zu den internen Wechselwirkungen ist beispielsweise die Aminosäure Arginin, die mit 11.876 deutlich häufiger an diesen Reaktionen beteiligt ist als bei den Wechselwirkungen innerhalb der Helix. Da Arginin als amphiphile Aminosäure bekannt ist und diesbezüglich in den transition-Bereichen einer Helixstruktur vermutet wird, können auch hier vermehrte Interaktionen zwischen benachbarten Helices stattfinden.

Tabelle 19: Ein Auszug der Interaktionen von hydrophobe-hydrophilen Kontakten, die sich zwischen den 20 kanonischen AS Helices übergreifend ausbilden können. Die AS sind als Ein Letter Code dargestellt. Die ausführliche Tabelle ist im Anhang unter [9] zu finden.

	R	C	I	L	F
R	813	28	1195	905	441
C	24	102	278	261	441
I	904	99	1195	1.807	241
L	904	99	696	836	591
F	813	64	814	1.807	441
Gesamt	11.876	1.296	14.621	19.117	7.482

6.5., Auftretende Bindungskräfte im Transmembranmotiv

Die gewonnen Erkenntnisse der untersuchten Transmembranproteine sollen nun bei der Motivanalyse von Nutzen sein. Diese Resultate werden an dem häufigsten Motiv angewandt, welches sich zwischen zwei Helixbereichen ausbilden kann. Durch die Arbeit von Martin Garbe wurde das Motiv AA3-AA2 als das häufigste Motiv ermittelt, welches zwischen den Helixbereichen miteinander korreliert. Dieses Muster wird in Abbildung X als Weblogo dargestellt. Hierbei ist deutlich zu erkennen, dass die Aminosäuren Leucin (L), Alanin (A) und Valin (V) auffallend häufig in dem Muster enthalten sind. Diese Erkenntnis ist damit zu begründen, dass diese Aminosäuren in der Lage sind, aufgrund ihrer hydrophoben Eigenschaft hydrophobe Wechselwirkungen auszubilden, die die Aminosäuren innerhalb des transmembranen Bereiches zwischen benachbarten Helices miteinander verbinden. Das häufige Auftreten der Aminosäure Glycin, ist auf dessen physikalische Struktur zurückzuführen. Angesichts der geringen Größe und der Wendigkeit dieser Aminosäure, dient sie in Helixstrukturen als sogenannter Lückenfüller, besitzt derzeit aber keine nennenswert chemischen Eigenschaften, die es für die Ausbildung von chemischen Bindungen benötigt. Glycin ist zwar bei der Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen und Van der Waals Kräften beteiligt, zählt

allerdings in Hinblick auf seine hohe Häufigkeitsverteilung in transmembranen Proteinen zu den durchschnittlichen Interaktionspartnern.

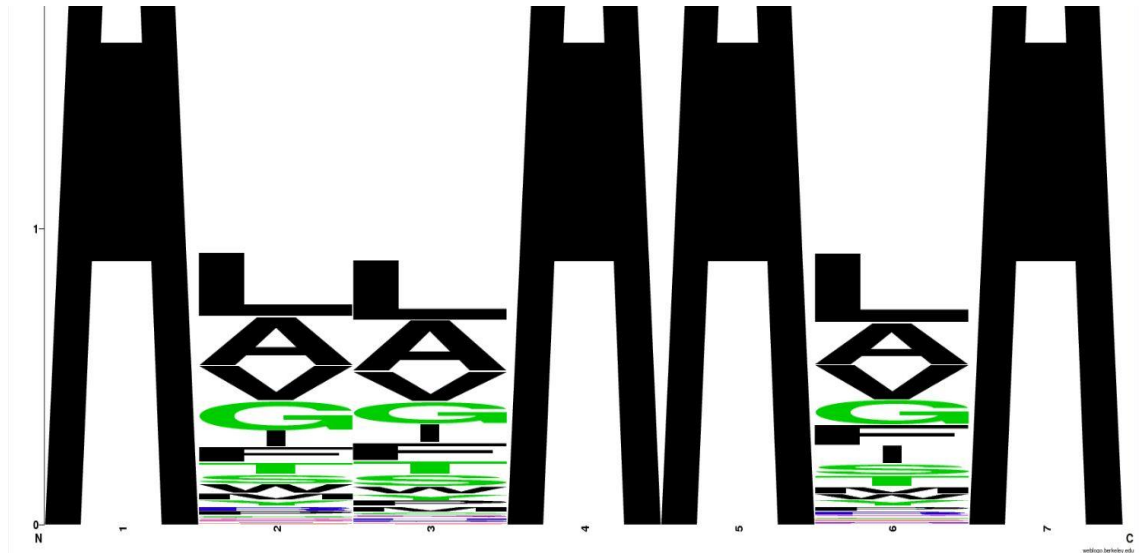


Abbildung 12: Weblogo des Motivs AA3-AA2, welches das am häufigsten Auftretende Motiv zwischen den helix Regionen ist [Garbe, 2012].

7 Ausblick

Nachdem bisher gezeigt wurde, dass die herausgefundenen Ergebnisse auf die in dieser Arbeit verwendeten Transmembranproteine zutreffend sind, gilt es nun dies durch weitere Untersuchungen zu überprüfen und zu bestätigen, um so jegliche Zweifel auszuschließen. Da die Sequenzabschnitte in Membranbereichen aufgrund ihrer Lage variieren, treten die Motive als signifikant in den Sekundärstrukturen auf. Da in dieser Arbeit nur auf die Bindungsfähigkeit einzelner Aminosäuren eingegangen wurde, sollte in fortführenden Untersuchungen die Verbindungen von Motiven analysiert werden, wofür diese Arbeit als Grundlage dienen könnte.

Letztendlich sollen die erzielten Ergebnisse helfen, ein besseres Verständnis für den Aufbau und die Form von Proteinstrukturen zu erlangen, um Rückschlüsse auf ihre Funktionsweise zu erhalten, die von ihrer Struktur bestimmt werden. Diese Informationen könnten abschließend einen entscheidenden Beitrag zur Entschlüsselung der Proteomik beisteuern.

8 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, herauszufinden, in wie weit die Eigenschaften der einzelnen Aminosäuren Auswirkungen auf die Proteinstruktur haben. Zu diesem Zweck, wurde eine intensive Literaturrecherche durchgeführt um die bereits bestehenden Grundlagen über die biochemischen und physikalischen Eigenschaften dieser 20 Aminosäuren, sowie deren mögliche Bindungsarten zusammenzutragen und als Gesamtbild darzustellen. Unter Verwendung der 334 transmembranen Proteine der „PDBTM“-Datenbank, und der Analyse der molekularen Kontakte von Aminosäuren vom „Weizmann Institut of Science“, konnten diese Erkenntnisse zielbewusst überprüft werden. Die daraus resultierenden Ergebnisse zeigten, dass die Eigenschaften der Aminosäuren zur Stabilität dieser 334 Transmembranproteine beitragen. Auffallend hierbei waren die Wasserstoffbrückenbindungen, die sich innerhalb der Helixstruktur zwischen allen kanonischen Aminosäuren ausbilden können und somit an der Stabilität und Festigkeit der Sekundärstruktur beteiligt sind. Da die Wasserstoffbrückenbindung bei ihrer Ausbildung nur eine geringe Reichweite besitzt, kam es zu der Vermutung, dass bei einer Verbindung zu benachbarten Aminosäuren die Untereinheiten dicht beieinander liegen müssen. Die aromatischen Verbindungen zeigten bei dieser Recherche einen geringen Bindungsanteil, was darauf zurückzuführen ist, dass die möglichen Bindungspartner hierfür quantitativ gering vertreten sind. Allerdings zeigte sich hierbei eine ausgewogene Verteilung zwischen den internen und externen Bindungspartnern, was zu dem Verdacht führte, dass die Reichweite für diese Interaktion größer zu sein scheint, als es bei den anderen Bindungsarten der Fall ist. Bei den hydrophoben Wechselwirkungen konnten zwischen den äußeren und inneren Helix-Kontakten quantitativ höhere Interaktionen zu benachbarten Helices ermittelt werden, die wie die Grundlagen bestätigen, zu einer größeren Reichweite fähig sind als die Wasserstoffbrückenbindungen. Dieses Ergebnis führte zu der Vermutung, dass hydrophobe Wechselwirkungen zur Stabilität benachbarter Polypeptidketten beitragen. Die Resultate der

hydrophoben-hydrophilen Kontakte, zeigen Interaktionen zwischen allen Aminosäuren. Dies führt zu der Annahme, dass diese Interaktionen zwischen den Aminosäuren durch Van der Waals-Kräfte ausgelöst werden, und durch die temporäre Eigenschaft dieser, als destabilisierend eingestuft werden. Retrospektiv betrachtet, sind diese Aminosäuren in der Lage in den untersuchten Proteinen Bindungskräfte aufzubauen, um so der Struktur eine gewisse Stabilität zu verschaffen. Eine weitere Bestätigung dieser Resultate liefert das Muster „AA2-AA3“ welches in Transmembranproteinen die häufigsten Interaktionen eingeht. In diesem Muster sind hydrophobe Aminosäuren am häufigsten enthalten, die laut dieser Arbeit zu benachbarten Helices die meisten Verbindungen eingehen können. Dieses Muster zeigt zusätzlich einen hohen Anteil der Aminosäure Glycin, welche bei der Bindungsfähigkeit eine vernachlässigbar kleine Position einnimmt. Daraus resultiert der Verdacht, dass Glycin zum größten Teil, aufgrund seiner physikalischen Eigenschaften in den Helixstrukturen enthalten ist, und nicht aufgrund seiner Bindungsfähigkeit.

Literaturverzeichnis

[Bayrhuber &Kull, 1989]

Bayrhuber, H und Kull, Ulrich. 1989. *Lindner Biologie*. Stuttgart : J.B. Metzlersche Verlagsbuchhandlung Stuttgart, 1989.

[Braun, 2011]

Braun, M. 2011. Vorlesung. *Organische Chemie 19. Aminosäuren und Peptide*.
[URL: http://www.chemie.uni-duesseldorf.de/Faecher/Organisch_Chemie/Studium/Biologie/Dokumente/Bio08-Vor/OC-Bio08-K19.pdf]. 2011.

[Crooks et al. 2005]

Crooks, Gavin E, et al. 2005. Weblogo. *Weblogo Version 2.8.2*. [Online] 08. September 2005. [Zitat vom: 28. Juli 2012.]
[URL: <http://weblogo.berkeley.edu/Crooks-2004-GR-WebLogo.pdf>.]

[Dose,1996]

Dose, K. 1996. *Biochemie: Eine Einführung*. Mainz : Springer, 1996.

[Enzymology, 2012]

Enzymology, Institute of. 2012. PDBTM. *Protein Data Bank of Transmembrane Proteine*. [Online] 02. Mai 2012. [Zitat vom: 04. August 2012.]
[URL: <http://pdbtm.enzim.hu/?m=download>.]

[Garbe, 2012]

Garbe, Martin. 2012. *Erkennung von Ähnlichkeitsbeziehungen wohl definierter Muster in Membranproteinen mit Hilfe regulärer Ausdrücke*. Mittweida:s.n., 2012. S. 64.

[Hildebrand, 2003]

Hildebrand, Peter. 2003. *Zur Strukturvorhersage der Membranproteine: Vergleich der Raumstrukturcharakteristika von Membranproteinen und globulären Proteinen*. Berlin : s.n., 27. Mai 2003.

[Mitaku et al. 1998]

Hirokawa, T, Boon-Chieng, S und Mitaku, S. 1998. SOSUI: classification and secondary structure prediction system for membrane proteins. *Oxford Journals Bioinformatics*. 23. Januar 1998, S. 378-379.
[URL: <http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/14/4/378.abstract>.]

[Hütt &Dehnert, 2006]

Hütt, Marc-Thorsten und Dehnert, Manuel. 2006. *Methoden der Bioinformatik*. Darmstadt : Springer Verlag, 2006.

[Jeschke, 2008]

Jeschke, G. 2008. *Aufbau der Materie Nichtkovalente Wechselwirkungen und Selbstorganisation*. Universität Konstanz : s.n., 11. Februar 2008.
[URL: <http://www.uni-konstanz.de/FuF/chemie/woell/aufbau.pdf>.]

[Karlson et al. 1994]

Karlson, P., Doenecke, D und Koolman, J. 1994. *Kurzes Lehrbuch der Biochemie: Für Mediziner und Naturwissenschaftler*. Marburg und Göttingen : Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1994. Bd. 14.

[Klärner, 2006]

Klärner, Frank-Gerrit. 2006. Universität Duisburg Essen. *Organische Chemie I*. [Online] Folie 42, 30. Januar 2006. [Zitat vom: 11. August 2012.] [URL:<http://duepublico.uni-duisburg-essen.de/servlets/DerivateServlet/Derivate-1211.xml>.]

[Köhler-Ma]

Köhler-Ma, C. CHEMGAROO Chemgapedia. [Zitat vom: 17. Juli 2012.] [URL:http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/8/bc/vlu/chem_grundlagen/wechselwirkungen.vlu/Page/vsc/de/ch/8/bc/chemische_grundlagen/schw_ww.vscml.html

[Köhler-Ma]

Köhler-Ma, Christian. CHEMGAROO Chemgapedia. [Zitat vom: 2012. Juli 11.] [URL:http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/8/bc/vlu/chem_grundlagen/wechselwirkungen.vlu/Page/vsc/de/ch/8/bc/chemische_grundlagen/van_waals1.vscml.html.]

[Kubik, 2012]

Kubik, Stefan. 2012. Technische Universität Kaiserslautern . *Fachbereich Chemie*. [Online] 19. Juni 2012. [Zitat vom: 4. August 2012.][URL: <http://www.chemie.uni-kl.de/forschung/oc/kubik/index.php?lan=de&sca=la&lev1=0tea&lev2=oc9&lev3=wec&lev4=ppw>.]

[Kummer]

Kummer, T. Seifen und Waschmittel. Van der Waals Kräfte. [Zitat vom: 01. Juli 2012.] [URL:<http://www.uni-due.de/~hc0014/S+WM/Definition/Vander.html>.]

[Lange, 2010]

Lange, N. 2010. *Ein Alpha-Shape-basiertes*. Köln, Deutschland : s.n., 14. Januar 2010.

[Gerstein et al. 2002]

Liu, Yang, Engelman, Donald M und Gerstein, Mark. 2002. Genombiology. *Genomic analysis of membrane protein families: abundance and conserved motifs*. [Online] 19. September 2002. [Zitat vom: 28. Juli 2012.] [URL: <http://genomebiology.com/content/pdf/gb-2002-3-10-research0054.pdf>.]

[Löffler & Petrides,1998]

Löffler, Georg und Petrides, Petro E. 1998. *Biochemie und Pathobiochemie*. Regensburg; Berlin : Springer Berlin Heidelberg, 1998.

[Mitaku, 2001]

Mitaku, Shigeki, Hirokawa, Takatsugu und Tsuji, Toshiyuki. 2001. Amphiphilicity index of polar amino acids as an aid in the characterization of amino acid preference at membrane–water interfaces. *Oxford Journals Bioinformatics*. 20. September 2001, S. 608-616. [URL: <http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/18/4/608.full.pdf+html>.]

Mittelstraß, Jürgen. 1999

Mittelstraß, Jürgen. 1999. *Methoden der Bioinformatik*. Darmstadt : Springer Verlag, 1999.

[David & Cox, 2008]

Nelson, David und Cox, Michael. 2008. *Lehninger Biochemie*. Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2008.

[Papageorgiou, 2012]

Papageorgiou, Marco. 2012. The University of Melbourne. *Scientific Scribbles*. [Online] 07. August 2012. [Zitat vom: 08. August 2012.]
[URL:<http://blogs.unimelb.edu.au/sciencecommunication/2012/08/07/we-have-a-signal-3/>.]

[Rehm & Hammer, 2005]

Rehm, H. und Hammer, F. 2005. *Biochemie light*. Frankfurt am Main : Verlag Harri Deutsch, 2005.

[Richter, 2010]

Richter, F. 2010. Vorlesung. *Organische Chemie 2.3 aromatische Kohlenwasserstoffe*. Mittweida : s.n., 04. Mai 2010.

[Richter, 2010]

Richter, F. 2010. Vorlesung . *Physikalische Chemie 2.1 Zwischenmolekulare Kräfte*. Mittweida : s.n., 29. September 2010.

[Schwenzer, 2011]

Schwenzer, B. 2011. Vorlesung . *Molekularbiologie/Gentechnik 3.1 Proteine*. Mittweida : s.n., 05. April 2011.

[Sobolev, et al.]

Sobolev, V., et al. Weizmann Institut of Science. *LPC/CSU*. [Zitat vom: 07. August 2012.]
[URL:<http://login.weizmann.ac.il/cgi-bin/lpccsu/LpcCsu.cgi>.]

[Sobolev et al. 1999]

Sobolev, Vladimir, et al. 1999. Automated nalysis of interatomic contacts in proteins. *Oxford University Press: Bioinformatics*. 12. Januar 1999, S. 327-332.

[Taylor, 1986]

Taylor, W. R. 1986. Wikipedia: Aminosäuren. *The classification of amino acid conservation*. In: *Journal of Theoretical Biology*. [Online] 1986. [Zitat vom: 10. Juni 2012.]
[URL:<http://de.wikipedia.org/wiki/Aminos%C3%A4uren>.]

Anhang

[1] Tabellen aller physiko-chemischen Eigenschaften der 20 kanonischen Aminosäuren

Tabelle 4: Polarität

A	unpolar
R	polar
D	polar
N	polar
C	polar
E	polar
Q	polar
G	unpolar
H	polar
I	unpolar
L	unpolar
K	polar
M	unpolar
F	unpolar
P	unpolar
S	polar
T	polar
W	unpolar
Y	polar
V	unpolar

Tabelle 3: Ladung

A	neutral
R	positiv
D	negativ
N	neutral
C	neutral
E	negativ
Q	neutral
G	neutral
H	positiv
I	neutral
L	neutral
K	positiv
M	neutral
F	neutral
P	neutral
S	neutral
T	neutral
W	neutral
Y	neutral
V	neutral

Tabelle 2: Größe

A	klein
R	groß
D	mittel
N	mittel
C	mittel
E	groß
Q	groß
G	klein
H	groß
I	groß
L	groß
K	groß
M	groß
F	groß
P	mittel
S	klein
T	klein
W	groß
Y	groß
V	mittel

Tabelle 1: Hydrophobizität

A	hydrophob
R	hydrophil/ amphiphil
D	hydrophil
N	hydrophil
C	hydrophob
E	hydrophil/ amphiphil
Q	hydrophil/ amphiphil
G	neutral
H	hydrophil/ amphiphil
I	hydrophob
L	hydrophob
K	hydrophil/ amphiphil
M	hydrophob
F	hydrophob
P	neutral
S	neutral
T	neutral/amphiphil
W	hydrophob
Y	neutral/amphiphil
V	hydrophob

Tabelle 5: Aromatische & Schwefelhaltige AS

C	schwefelhaltig
H	aromatisch
M	schwefelhaltig
F	aromatisch
W	aromatisch
Y	aromatisch

[2] Ausführliche Tabelle über alle Wasserstoffbrücken Interaktionen innerhalb einer Helixstruktur. Die gelb unterlegten Felder geben die aufsummierten gesamt Reaktionen der einzelnen 20 AS wieder.

	A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
A	2.295	1.474	1.761	490	1.015	909	1.488	4.485	1.123	1.826	7.097	902	1.551	5.157	342	925	3.728	705	3.031	2.744
R	4.229	2.353	563	718	1.015	480	1.315	288	1.123	1.826	4.038	982	404	5.157	982	2.430	882	888	286	2.561
N	431	266	572	368	74	952	234	1.371	356	290	487	902	122	275	524	625	295	888	884	1.876
D	1.623	768	190	250	85	909	177	177	657	1.119	2.791	1.049	95	322	57	1.023	1.724	888	884	211
C	196	406	67	31	85	43	27	152	39	234	295	142	57	153	34	110	110	54	243	301
Q	354	768	1.761	490	113	252	905	280	1.123	211	812	183	109	2.050	504	625	475	1.556	243	1.876
E	4.229	2.353	363	862	32	909	1.488	4.485	1.123	1.826	812	765	117	326	982	2.430	882	1.556	667	2.561
G	4.229	458	563	348	129	383	263	958	312	3.713	7.097	982	1.551	5.157	409	887	657	1.556	3.031	2.744
H	246	768	109	718	73	110	905	1.371	118	1.119	305	202	1.335	322	42	1.023	1.724	103	498	186
I	1.623	362	335	697	1.015	238	905	1.371	657	4.340	2.791	1.049	1.551	951	524	2.072	1.724	705	667	1.255
L	5.092	2.353	510	862	1.015	417	1.315	4.485	1.123	4.340	3.125	1.049	591	5.157	982	2.072	3.728	1.556	3.031	2.561
K	2.295	1.474	1.761	862	73	909	1.488	4.485	312	4.340	2.791	518	99	216	524	2.430	882	888	3.031	260
M	536	163	363	94	258	383	131	358	267	407	607	142	1.335	2.050	409	276	272	107	498	432
F	4.229	1.474	572	348	258	952	190	4.485	356	3.713	7.097	982	1.335	2.050	504	1.006	573	386	3.031	2.441
P	227	2.353	563	250	74	480	1.315	151	267	3.713	4.038	202	59	326	342	133	129	705	90	301
S	4.229	1.474	1.761	697	109	952	1.488	690	657	4.340	4.038	765	1.335	5.157	504	2.430	1.724	888	3.031	2.441
T	5.092	406	309	697	1.015	371	905	1.584	657	1.119	7.097	518	1.551	2.050	170	1.023	3.728	1.556	3.031	2.441
W	312	458	137	250	258	371	88	267	356	246	450	100	404	299	79	887	475	386	498	295
Y	5.092	2.353	1.761	368	113	480	220	4.485	267	3.713	7.097	982	404	379	409	1.006	3.728	888	308	2.744
V	5.092	2.353	1.761	718	1.015	952	1.315	1.584	1.123	3.713	4.038	902	1.335	5.157	982	2.430	3.728	1.556	884	1.876
Ges.	51.651	24.837	15.782	10.118	7.824	11.452	16.162	37.512	12.016	46.148	66.903	13.318	15.340	42.711	9.305	25.803	31.168	17.815	27.867	32.107

[3] Ausführliche Tabelle über alle Wasserstoffbrücken Interaktionen zwischen benachbarten Helixstrukturen. Die Aminosäuren die zueinander Wasserstoffbrückenbindungen durch ihre Seitenketten eingehen können, sind hier rot unterlegt. Die gelb unterlegten Felder geben die aufsummierten gesamt Reaktionen der einzelnen 20 AS wieder.

	A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
A	116	86	185	28	43	133	187	248	43	305	105	66	29	224	32	103	131	124	318	199
R	373	619	96	325	26	95	309	91	254	305	337	183	199	284	25	486	121	45	205	249
N	244	531	460	104	54	90	187	129	254	51	144	62	78	48	71	241	450	54	101	42
D	148	148	460	12	3	49	309	34	254	148	337	183	16	284	25	486	48	27	76	249
C	15	23	15	5	20	7	72	9	101	82	125	183	52	284	32	12	21	24	25	16
Q	55	619	67	34	5	53	65	248	94	35	144	365	43	123	3	78	54	54	318	65
E	49	619	160	325	3	67	35	34	84	148	64	365	78	123	5	174	450	24	72	249
G	244	531	160	155	54	70	187	248	60	82	201	365	199	88	22	151	450	56	173	88
H	148	619	160	59	32	45	116	50	254	305	452	31	17	284	71	64	50	58	173	65
I	65	531	460	155	24	99	22	162	23	305	452	26	199	77	21	137	154	58	419	115
L	132	531	185	104	24	63	49	123	84	148	170	56	38	224	21	486	450	118	419	199
K	373	68	73	325	54	75	115	51	101	305	125	365	78	284	27	81	59	75	110	105
M	132	43	19	8	32	99	14	123	37	144	452	51	11	77	1	40	24	124	110	199
F	78	619	460	20	32	133	116	62	28	144	452	51	199	284	9	174	131	124	318	47
P	244	619	87	325	20	12	1	162	28	144	144	365	0	123	0	18	450	58	419	65
S	373	619	460	325	43	97	309	113	94	84	337	115	199	284	71	486	450	75	419	249
T	101	89	460	42	43	78	72	87	101	65	128	53	27	59	27	109	154	45	419	115
W	373	43	185	59	11	90	31	162	37	144	452	11	199	224	32	53	122	118	44	30
Y	86	531	87	155	20	99	69	162	254	305	93	365	52	123	71	241	122	118	318	105
V	148	531	51	155	6	133	116	129	254	144	452	115	43	224	71	137	39	124	205	56
Gesamt	3.497	8.918	4.290	2.720	549	1.587	2.381	2.427	2.439	3.393	5.166	3.376	1.756	3.725	637	3.757	3.930	1.503	4.661	2.505

[4] Ausführliche Tabelle über alle aromatischen Interaktionen innerhalb einer Helixstruktur. Wie zu erkennen ist, können nur die aromatischen Aminosäuren Bindungen eingehen, hier rot unterlegt. Die gelb unterlegten Felder geben die aufsummierten gesamt Reaktionen der einzelnen 4 aromatischen AS wieder.

	A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	506	0
R	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	214	0	0
N	0	0	0	0	0	0	0	0	246	0	0	0	0	0	0	0	0	214	0	0
D	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	131	0	0	0	214	0	0
C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Q	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.565	0	0	0	0	0	0
E	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
G	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	506	0
H	0	0	0	0	0	0	0	0	85	0	0	0	0	131	0	0	0	69	342	0
I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	506	0
K	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	214	506	0
M	0	0	0	0	0	0	0	0	102	0	0	0	0	1.565	0	0	0	0	342	0
F	0	0	0	0	0	0	0	0	246	0	0	0	0	1.565	0	0	0	651	506	0
P	0	0	0	0	0	0	0	0	102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	214	506	0
T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.565	0	0	0	0	506	0
W	0	0	0	0	0	0	0	0	246	0	0	0	0	457	0	0	0	651	342	0
Y	0	0	0	0	0	0	0	0	102	0	0	0	0	563	0	0	0	214	331	0
V	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ges.	0	0	0	0	0	0	0	0	1.129	0	0	0	0	7.542	0	0	0	2.655	4.899	0

[5] Ausführliche Tabelle über alle aromatischen Interaktionen zwischen benachbarten Helixstrukturen, in der nur die aromatischen Aminosäuren Wechselwirkungen eingehen können. Die gelb unterlegten Felder geben die aufsummierten gesamt Reaktionen der einzelnen 4 aromatischen AS wieder.

	A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	227	0	0	0	243	481	0
R	0	0	0	0	0	0	0	0	101	0	0	0	0	809	0	0	0	0	0	0
N	0	0	0	0	0	0	0	0	101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D	0	0	0	0	0	0	0	0	101	0	0	0	0	809	0	0	0	0	0	0
C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	809	0	0	0	0	0	0
Q	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	231	0	0	0	0	481	0
E	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	231	0	0	0	0	0	0
G	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	44	0
H	0	0	0	0	0	0	0	0	101	0	0	0	0	809	0	0	0	37	44	0
I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	37	0	0
L	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	227	0	0	0	205	0	0
K	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	809	0	0	0	0	0	0
M	0	0	0	0	0	0	0	0	28	0	0	0	0	0	0	0	0	243	0	0
F	0	0	0	0	0	0	0	0	52	0	0	0	0	809	0	0	0	243	481	0
P	0	0	0	0	0	0	0	0	52	0	0	0	0	231	0	0	0	37	0	0
S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	809	0	0	0	0	0	0
T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
W	0	0	0	0	0	0	0	0	28	0	0	0	0	227	0	0	0	205	100	0
Y	0	0	0	0	0	0	0	0	101	0	0	0	0	231	0	0	0	205	481	0
V	0	0	0	0	0	0	0	0	101	0	0	0	0	227	0	0	0	243	0	0
Ges.	0	0	0	0	0	0	0	0	766	0	0	0	0	7.495	0	0	0	1.698	2.112	0

[6] Ausführliche Tabelle über alle hydrophoben Interaktionen innerhalb einer Helixstruktur. Auffallend sind hier die rot hinterlegten AS Glycin und Serin die als hydrophile AS keine hydrophoben Wechselwirkungen eingehen können. Die gelb unterlegten Felder geben die aufsummierten gesamt Reaktionen der einzelnen 20 AS wieder.

	A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
A	709	483	373	95	457	289	486	0	870	1.682	6.151	507	1.164	5.271	540	0	2.311	962	2.201	1.707
R	1.314	1.250	111	190	457	282	952	0	870	1.682	4.274	567	526	5.271	1.551	0	343	440	191	3.603
N	53	36	160	99	18	401	36	0	219	146	217	507	41	128	801	0	53	440	817	2.264
D	1.276	158	21	130	17	289	50	0	328	951	3.967	799	27	178	66	0	742	440	817	104
C	35	114	7	4	17	5	14	0	20	132	140	101	31	95	19	0	28	44	142	585
Q	111	158	373	95	50	71	484	0	870	182	644	80	75	2.091	486	0	235	1.693	142	2.264
E	1.314	1.250	81	308	12	289	486	0	870	1.682	644	187	80	585	1.551	0	343	1.693	792	3.603
G	1.314	99	111	83	0	75	0	0	71	5.108	6.151	567	1.164	5.271	432	0	0	1.693	2.201	1.707
H	105	158	31	190	28	53	484	0	39	951	319	214	1.451	178	88	0	742	56	486	208
I	1.276	274	154	153	457	202	484	0	328	6.288	3.967	799	1.164	1.722	801	0	742	962	792	2.092
L	3.804	1.250	246	308	457	310	952	0	870	6.288	5.279	799	924	5.271	1.551	0	2.311	1.693	2.201	3.603
K	709	483	373	308	28	289	486	0	71	6.288	3.967	243	84	209	801	0	343	440	2.201	241
M	410	91	81	37	192	75	103	0	238	607	873	101	1.451	2.091	432	0	201	187	486	580
F	1.314	483	160	83	192	401	157	0	219	5.108	6.151	567	1.451	2.091	486	0	499	400	2.201	2.048
P	365	1.250	111	130	18	282	952	0	238	5.108	4.274	214	166	585	540	0	161	962	292	585
S	1.314	483	373	153	0	401	486	0	328	6.288	4.274	187	1.451	5.271	486	0	742	440	2.201	2.048
T	3.804	114	66	153	457	185	484	0	328	951	6.151	243	1.164	2.091	132	0	2.311	1.693	2.201	2.048
W	316	99	57	130	192	185	70	0	219	446	733	120	526	267	172	0	235	400	486	490
Y	3.804	1.250	373	99	50	282	138	0	238	5.108	6.151	567	526	376	432	0	2.311	440	214	1.707
V	3.804	1.250	373	190	457	401	952	0	870	5.108	4.274	507	1.451	5.271	1.551	0	2.311	1.693	817	2.264
Ges.	27.151	10.733	3.635	2.938	3.556	4.767	8.256	0	8.104	60.104	68.601	7.876	14.917	44.313	12.918	0	16.964	16.771	21.887	33.751

[7] Ausführliche Tabelle über alle hydrophoben Interaktionen zwischen benachbarten Helixstrukturen. Auffallend sind hier die rot hinterlegten AS Glycin und Serin die als hydrophile AS keine hydrophoben Wechselwirkungen eingehen können. Die gelb unterlegten Felder geben die aufsummierten gesamt Reaktionen der einzelnen 20 AS wieder.

	A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
A	396	61	176	14	48	240	67	0	50	1.847	791	63	215	2.209	192	0	396	538	564	1.807
R	292	242	11	47	8	15	49	0	200	1.847	193	52	698	669	42	0	33	46	353	173
N	217	443	180	59	16	51	67	0	200	53	570	17	104	63	255	0	515	54	41	39
D	626	18	180	3	6	9	49	0	200	1.326	193	52	17	669	42	0	25	13	34	173
C	26	8	5	2	54	3	42	0	84	38	185	52	164	669	192	0	10	38	37	46
Q	48	242	13	9	1	11	16	0	18	73	570	236	275	455	21	0	28	54	564	330
E	57	242	19	47	3	13	22	0	139	1.326	125	236	104	455	23	0	515	38	44	173
G	217	443	19	91	16	0	67	0	0	38	0	236	698	0	0	0	515	0	33	0
H	626	242	19	33	93	26	190	0	200	1.847	4.584	22	41	669	255	0	37	329	33	330
I	561	443	180	91	120	139	82	0	73	1.847	4.584	77	698	965	367	0	356	329	1.066	935
L	996	443	176	59	120	121	129	0	139	1.326	2.026	118	389	2.209	367	0	515	376	1.066	1.807
K	292	23	16	47	16	23	35	0	84	1.847	185	236	104	669	100	0	29	40	205	341
M	996	67	17	11	93	139	32	0	67	2.036	4.584	119	101	965	64	0	89	538	205	1.807
F	510	242	180	36	93	240	190	0	98	2.036	4.584	119	698	669	152	0	396	538	564	596
P	217	242	65	47	54	45	57	0	98	2.036	570	236	98	455	69	0	515	329	1.066	330
S	292	242	180	47	48	0	49	0	18	0	193	76	698	669	255	0	515	40	1.066	173
T	166	42	180	18	48	36	42	0	84	232	364	47	90	223	100	0	356	71	1.066	935
W	292	67	176	33	19	51	29	0	67	2.036	4.584	33	698	2.209	192	0	202	376	53	212
Y	204	443	65	91	54	139	48	0	200	1.847	469	236	164	455	255	0	202	376	564	341
V	626	443	56	91	45	240	190	0	200	2.036	4.584	76	275	2.209	255	0	217	538	353	589
Ges.	7.657	4.638	1.913	876	955	1.541	1.452	0	2.219	25.674	33.938	2.339	6.329	17.555	3.198	0	5.466	4.661	9.077	11.137

[8] Ausführliche Tabelle alle hydrophobe-hydrophilen Interaktionen innerhalb einer Helixstruktur. Die gelb unterlegten Felder geben die aufsummierten gesamt Reaktionen der einzelnen 20 AS wieder.

	A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
A	3.621	2.027	2.324	722	1.522	1.326	2.024	4.441	1.576	3.310	10.802	1.451	2.496	7.011	882	951	4.955	1.147	3.962	4.425
R	5.516	3.460	840	895	1.522	779	2.173	2.58	1.576	3.310	7.018	1.347	776	7.011	2.302	2.227	1.149	1.063	359	4.385
N	617	339	741	452	162	1.287	304	1.462	440	557	864	1.451	218	382	1.255	521	323	1.063	1.191	3.264
D	2.668	899	249	557	126	1.326	300	157	722	1.863	4.681	1.591	180	440	225	754	2.012	1.063	1.191	417
C	290	491	101	43	126	54	47	124	55	327	428	245	95	187	85	96	124	87	295	852
Q	581	899	2.324	722	156	323	1.316	254	1.576	408	1.494	283	207	2.655	1.057	521	554	2.079	295	3.264
E	5.516	3.460	539	1.270	46	1.326	2.024	4.441	1.576	3.310	1.494	919	229	736	2.302	2.227	1.149	2.079	1.002	4.385
G	5.516	528	840	461	135	505	291	343	297	6.344	10.802	1.347	2.496	7.011	953	484	452	2.079	3.962	4.425
H	339	899	130	895	95	125	1.316	1.462	110	1.863	490	401	2.158	440	127	754	2.012	104	650	296
I	2.668	607	566	893	1.522	397	1.316	1.462	722	7.242	4.681	1.591	2.496	1.494	1.255	2.726	2.012	1.147	1.002	2.136
L	8.097	3.460	871	1.270	1.522	722	2.173	4.441	1.576	7.242	5.175	1.591	1.055	7.011	2.302	2.726	4.955	2.079	3.962	4.385
K	3.621	2.027	2.324	1.270	95	1.326	2.024	4.441	297	7.242	4.681	776	187	306	1.255	2.227	1.149	1.063	3.962	457
M	889	251	539	187	365	505	246	407	375	699	1.049	245	2.158	2.655	953	356	422	186	650	782
F	5.516	2.027	741	461	365	1.287	270	4.441	440	6.344	10.802	1.347	2.158	2.655	1.057	827	631	549	3.962	3.600
P	649	3.460	840	557	162	779	2.173	275	375	6.344	7.018	401	223	736	882	294	369	1.147	328	852
S	5.516	2.027	2.324	893	110	1.287	2.024	300	722	7.242	7.018	919	2.158	7.011	1.057	2.227	2.012	1.063	3.962	3.600
T	8.097	491	342	893	1.522	459	1.316	1.544	722	1.863	10.802	776	2.496	2.655	377	754	4.955	2.079	3.962	3.600
W	517	528	166	557	365	459	111	210	440	425	768	168	776	390	213	484	554	549	650	514
Y	8.097	3.460	2.324	452	156	779	228	4.441	375	6.344	10.802	1.347	776	553	953	827	4.955	1.063	328	4.425
V	8.097	3.460	2.324	895	1.522	1.287	2.173	1.544	1.576	6.344	7.018	1.451	2.158	7.011	2.302	2.227	4.955	2.079	1.191	3.264
Ges.	76.428	34.800	21.449	14.345	11.596	16.338	23.849	36.448	15.548	78.623	107.887	19.647	25.496	58.350	21.794	24.210	39.699	23.768	36.886	53.328

[9] Ausführliche Tabelle alle hydrophobe-hydrophilen Interaktionen zwischen benachbarten Helixstrukturen. Die gelb unterlegten Felder geben die aufsummierten gesamt Reaktionen der einzelnen 20 AS wieder.

	A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
A	429	162	405	74	95	354	290	274	61	1.195	593	127	187	591	130	188	304	272	361	942
R	626	813	125	376	28	114	301	81	241	1.195	905	258	562	441	120	543	167	56	275	670
N	637	904	594	197	69	128	290	251	241	152	760	90	190	70	283	122	967	73	68	127
D	569	114	594	48	7	64	301	44	241	696	905	258	54	441	120	543	74	18	53	670
C	39	24	27	13	102	8	100	18	102	278	261	258	108	441	130	20	25	30	21	40
Q	106	813	78	44	14	71	75	274	50	110	760	596	197	319	45	69	86	73	361	383
E	147	813	175	376	14	84	83	55	142	696	200	596	190	319	47	153	967	30	65	670
G	637	904	175	244	69	77	290	274	24	278	411	596	562	103	72	61	967	40	78	259
H	569	813	175	41	64	41	219	20	241	1.195	1.807	35	40	441	283	33	56	167	78	383
I	356	904	594	244	99	232	115	425	69	1.195	1.807	90	562	241	183	500	426	167	875	542
L	742	904	405	197	99	178	190	404	142	696	836	160	175	591	183	543	967	219	875	942
K	626	134	87	376	69	98	104	55	102	1.195	261	596	190	441	116	88	86	70	195	300
M	742	104	69	37	64	232	71	404	53	814	1.807	94	76	241	30	104	107	272	195	942
F	161	813	594	38	64	354	219	88	85	814	1.807	94	562	441	52	153	304	272	361	121
P	637	813	215	376	102	114	130	425	85	814	760	596	83	319	29	169	967	167	875	383
S	626	813	594	376	95	81	301	21	50	239	905	172	562	441	283	543	967	70	875	670
T	227	119	594	48	95	111	100	74	102	236	402	86	116	100	116	105	426	54	875	542
W	626	104	405	41	15	128	22	425	53	814	1.807	22	562	591	130	41	161	219	42	101
Y	146	904	215	244	102	232	63	425	241	1.195	326	596	108	319	283	122	161	219	361	300
V	569	904	154	244	30	354	219	251	241	814	1.807	172	197	591	283	500	211	272	275	251
Ges.	9.217	11.876	6.274	3.734	1.296	3.055	3.483	4.288	2.566	14.621	19.117	5.492	5.283	7.482	2.918	4.600	8.396	2.760	7.164	9.238

[10] - CD

Die beigefügte CD enthält neben der Bachelorarbeit, die im PDF-Format vorliegt, das unter 4.3 erwähnte Programm „ResidueResidueInteraction“. Die Implementierungshinweise sind in dem Dokument „kleine Hilfe“ zu finden.

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus Quellen entnommen wurden, sind als solche kenntlich gemacht.

Diese Arbeit wurde in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Mittweida, den 22.August.2012

Jenny Bleeck